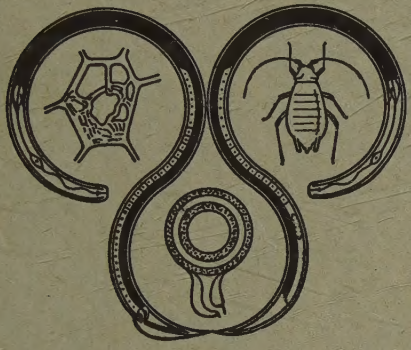
MONWEALTH INST.
OMOLOGY LIBRARY
18 APR 1955
AL Eu.86
ARATE

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

JAARGANG 61 - 1955

2e AFLEVERING



Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS;
Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4*a*, Wageningen

BESTUUR
VAN DE NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr J. G. ten Houten, Wageningen, *voorzitter.*

Mej. Prof. Dr L. C. P. Kerling, Javalaan 20, Baarn, *secretaresse.*

Dr P. A. van der Laan, Laboratorium voor Phytopathologie der Landbouwhogeschool, Wageningen, *1e penningmeester.* Postrekening nr 346310 t.n.v. Penningmeester Ned. Plantenziektenkundige Vereniging, Wageningen.

Mej. F. Quak, Binnenhaven 4a, Wageningen, *2e penningmeesteresse.*

Dr Ir C. Mastenbroek, Hoofddorp.

G. Houtman, Hoorn.

A. van Herwijnen, St Pancras.

Lidmaatschap Ned. Plantenziektenkundige Vereniging

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 6,—, België f 6,— of 80 francs, Buitenland f 7,—. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 8,50, België f 8,50 of 115 frs. Buitenland f 11,50. Betalingen op postrekening 346310 t.n.v. Penningmeester Ned. Plantenziektenkundige Vereniging te Wageningen.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: ⅛ pag. f 12,50; ¼ pag. f 20,—; ½ pag. f 30,—; 1 pag. f 55,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.

Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4*a*, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen, Wageningen, tel. 2242.

INHOUD

HOOFDARTIKELEN

Dr Ir C. MASTENBROEK – Over de bestrijding van de vetvlekkenziekte in stambonen. *With a summary: The control of halo blight in haricot beans* 29

H. W. RAGETLI, CHRISTINA VAN DER SCHEER en J. P. H. VAN DER WANT Electronenmicroscopie van papierchromatografisch verkregen fracties van plantensappen uit virusziek en gezond materiaal. *With a summary: Electron-microscopy of fractions obtained by a paperchromatography from juices of virus diseased and healthy plants* 35

Ir J. D. BIJLOO – Proeven ter bestrijding van *Heterodera rostochiensis* door het wassen en ontsmetten van aardappelen. *With a summary: Experiments to control Heterodera rostochiensis by washing and desinfecting potatoes* 47

Dr C. J. H. FRANSSEN – De bestrijding van de tuinbonenkever, *Bruchus rufimanus* Boh., volgens de ontwikkeling van het gewas. *With a summary: The control of Bruchus rufimanus in relation to the development of the beancrop* 52

H. H. EVENHUIS – Over de cicadellidenfauna van de Kers. *With a summary: Observations on leafhoppers of cherry* 56

W. VAN SOEST – Een instrument voor het afsnijden van de styletten bij zuigende bladluizen. *With a summary: Scissors for cutting the stylets of a feeding aphid* 60

UIT DE LITERATUUR

M. H. VAN RAALTE – Nieuwe inzichten omtrent epiphyten 62

BOEKBESPREKING

W. F. Jepson – A Critical Review of the World Literature on the Lepidopterous Stalk Borers of Tropical Graminaceous Crops, door P. A. van der Laan 64

T. Pl.ziekten 61 (1955): 29–34

OVER DE BESTRIJDING VAN DE VETVLEKKENZIEKTE IN STAMBONEN

With a summary: The control of halo blight in haricot beans

DOOR

DR IR C. MASTENBROEK

De vetvlekkenziekte, veroorzaakt door de bacterie *Pseudomonas medicaginis phaseolicola*, is als gevolg van ons meestal regenachtig en winderig klimaat in Nederland in stambonen een belangrijke ziekte.

Aan het kweken van resistente rassen wordt sedert 1940 gewerkt (MASTENBROEK, 1943), maar zolang rassen met voldoende resistentie nog niet verkregen zijn, is een betrouwbare bestrijdingswijze van betekenis.

De ervaringen van HÄHNE (1942) met het verwijderen van secundair zieke planten waren ongunstig. Zelfs in droge jaren, zeer ongunstig voor de verspreiding van de ziekte, gelukte het niet, gezond zaad te oogsten. Scherp lezen en warmwaterbehandeling gaven onvoldoende resultaat, evenals chemische zaaizaadontsmetting. Gunstig daarentegen werkten bespuitingen van het gewas met koperpreparaten.

HET VERWIJDEREN VAN ZIEKE PLANTEN

Eigen ervaringen op dit punt zijn in overeenstemming met die van HÄHNE (1942). Het selecteren op zichzelf is mogelijk, want secundair zieke planten vertonen kenmerkende symptomen. Wegens het grote aantal planten per oppervlakte (plm. 250.000 per ha) is het echter zeer bewerkelijk. Secundair zieke planten zijn bovendien vaak kleiner dan normaal, kunnen gemakkelijk schuil gaan onder gezonde planten en daardoor aan de selectie ontsnappen.

Aangezien de verspreiding van de bacterie waarschijnlijk direct na de opkomst begint zodra er regen valt, moet met het selecteren zo vlug mogelijk begonnen worden. Het duurt echter enige tijd voordat zich duidelijke symptomen ontwikkeld hebben. In die tussentijd kan de verspreiding begonnen zijn. Op het ogenblik, dat de secundair zieke planten verwijderd worden, zijn de primair zieke planten, vanwege de lengte van de incubatieperiode, als zodanig nog niet herkenbaar. Bij de selectie worden dus wel de *zichtbaar* zieke, maar nog niet *alle* zieke planten verwijderd. Na plaats gevonden selectie kan de verspreiding weer verder gaan. Dit geldt ook voor eventueel later uitgevoerde selecties op primair zieke planten. De selectie loopt steeds achter de aantasting aan. Alleen een langdurige periode (3 à 4 weken) zonder regen, zou verdere uitbreiding van de ziekte volledig kunnen verhinderen.

Vervolgens werd getracht de ziekte te onderdrukken door om een secundair zieke plant alle planten binnen een straal van 1 meter te verwijderen. Vorming van haarden werd in een groter aantal gevallen dan bij het verwijderen van alleen de secundair zieke plant verhinderd, maar werd niet altijd voorkomen. Zelfs het verwijderen van alle planten in een straal van twee meter was niet steeds voldoende. De ervaringen met het leegplukken van een één of twee meter

brede strook om een haard van primair zieke planten waren even ongunstig. Blijkbaar kan de bacterie bij regen en sterke wind over grote afstanden verspreid worden (KOOPMAN, 1944).

HET UITZOEKEN VAN GEZONDE PEULEN

Van scherp lezen van het zaad mocht weinig resultaat verwacht worden, omdat zeer zwakke aantastingen gemakkelijk over het hoofd worden gezien. Deze zijn echter juist het gevaarlijkst, omdat zulke zaden eerder het aanzien zullen geven aan een secundair zieke plant dan duidelijk aangetaste zaden. Warmwaterontsmetting beschadigt de kiemkracht te zeer. Beproefd werd daarom, gezond zaad te verkrijgen door het uitzoeken van gezonde peulen, zonder vetvlekken op de peulwanden of langs de naden. Verwacht mag worden, dat bacteriën niet in zulke volkomen gave peulen hebben kunnen doordringen en dat het zaad volkomen gezond is. De symptomen op de peulen, ook droge peulen, zijn zeer duidelijk. Mocht men bij het lezen zeer kleine vlekjes over het hoofd zien, dan is de kans uiterst klein, dat de aantasting in deze kleine vlekjes tot in de zaden is kunnen voortschrijden. De ervaringen hiermee zijn tot op heden gunstig geweest. Het enige bezwaar is, dat de werkwijze tijdrovend en dus kostbaar is, maar zij kan in de wintermaanden uitgevoerd worden. Men kan het daarom slechts op kleine schaal uitvoeren. Het zou het beste zijn als de kweker zelf hiervoor zorg droeg. Met de verkregen kleine hoeveelheid zaaizaad bezaaie men een van andere velden stambonen terdege geïsoleerd perceeltje en sproeie dit grondig en herhaaldelijk om besmetting van buitenaf, menselijkerwijs gesproken, onmogelijk te maken. De verkregen oogst is gezond en is een goede basis voor het opbouwen van een gezonde of voldoend gezonde vermeerdering, waarbij het toepassen van bespuitingen met koperbevattende middelen noodzakelijk is. Hierover werden enkele proeven genomen.

BESPUITINGSPROEVEN

Aangezien zaadovergang, zelfs in zaad van zwaar aangetaste gewassen, hoogstens bij de 1% ligt, is het gebruik van natuurlijk aangetast zaad voor proeven met kleine perceeltjes niet aan te bevelen; het vóórkomen van secundair zieke planten zou voor het doel van de proeven te onregelmatig zijn. Daarom werd gezond zaad van het ras Ceka gebruikt. Teneinde zaadovergang na te bootsen, werden vlak na de opkomst in de middelste rij of afwisselend in de middelste twee rijen van elk perceeltje 1 plant per drie dibbels (afstand 35 cm in het vierkant) ingespoten met een suspensie van virulente bacteriën. De inoculatie vond plaats in het hypocotyl met behulp van een injectienaald (MASTENBROEK, 1943). In 1944 werden per veldje 552 zaden gezaaid en 8 planten geïnoculeerd; dit komt overeen met een zaadovergang van 1,5%. Voor 1950 waren deze cijfers resp. 324 zaden en 7 geïnoculeerde planten (zaadovergang 2,3%).

Voor de bespuitingen werd gebruikt 1% Koper Bayer. Niet te bespuiten percelen werden met een windschut beschermd. Het aantal en de data van de bespuitingen worden in de tabellen vermeld. In 1945 konden, tengevolge van regen, de bespuitingen niet met regelmatige tussenpozen worden uitgevoerd. Alleen in 1944 werd de mate van besmetting van elk perceeltje in cijfers van 0 (geen aantasting) tot 10 (zeer zwaar aangetast) genoteerd. Na de afrijping werd

het percentage peulen met één of meer vetvlekken vastgesteld van de middelste of van de middelste twee rijen. Het effect van bespuitingen werd vastgesteld door een object onbehandeld op te nemen. Tevens werd een object „niet geinoculeerd – wel bespoten" ingeschakeld, teneinde de mogelijkheid te onderzoeken een gezond gewas door middel van bespuitingen te beschermen tegen besmetting vanuit een aangrenzend ziek gewas. Elk object telde drie herhalingen.

TABEL 1. Invloed van bespuitingen op verspreiding van de vetvlekkenziekte
The effect of spraying on the spread of halo blight

Inoculatie 3/6/'44	Object	Bespoten op (*sprayed on*)							Gemiddelde aantasting 15/7 *Average attack*	Gemiddeld % zieke peulen *Average % diseased pods*
		12/6	19/6	28/6	4/7	12/7	18/7	1/8		
	A	+	+	+	+	+	+	+	0	0,0
+	B								7,5	35,9 ± 1,0
+	C	+	+	+	+		+	+	sp.	0,4 ± 0,1
+	D	+		+		+	+		1,0	0,9 ± 0,1

De bespuitingen hadden dus een uitgesproken gunstig resultaat. Zes maal bespuiten was slechts zeer weinig, doch betrouwbaar beter dan vier maal spuiten. Geheel voorkómen kon de aantasting niet worden, wanneer besmette planten („zaadovergang") in het veldje aanwezig zijn, zelfs niet bij zesmaal spuiten (object C). Het gezonde object A kon echter wel geheel gezond gehouden worden.

Het jaar 1944 had een droge zomer; de proef werd in 1945, een jaar met een natte zomer, herhaald.

TABEL 2. Invloed van bespuitingen op verspreiding van de vetvlekkenziekte
The effect of spraying on the spread of halo blight

Inoculatie 9/6/45	Object	Bespoten op (*sprayed on*)					Gemiddeld % zieke peulen *average % diseased pods*
		20/6	4/7	11/7	25/7	2/8	
+	B						63,9 ± 4,1
+	C	+	+	+	+	+	1,4 ± 0,2
+	D	+	+	+	+		1,6 ± 0,4

De invloed van de grotere regenval komt zowel in de aantasting van object B als in die van de objecten C en D tot uiting. Tussen C en D bestond geen betrouwbaar verschil. Het effect van de bespuiting was t.o.v. onbespoten in het natte jaar groter dan in het droge.

In de beide behandelde proeven werd plm. 10 dagen na de inoculatie met de bestrijding een begin gemaakt. In beide jaren werd tevens de invloed van de periode tussen inoculatie en begin der bestrijding op de uitbreiding van de ziekte nagegaan. De grootte der percelen en de behandeling was als in bovenbedoelde proeven, met uitzondering van het begin der bespuitingen; deze zijn in de tabellen 3 en 4 vermeld.

TABEL 3. Invloed van het begin der bespuitingen op de verspreiding der vetvlekkenziekte
The effect of the time of spraying on the spread of halo blight

Inoculatie 3/6/'44	Object	Bespoten op (*sprayed on*)							Gemiddelde aantasting 15/7 *Average attack*	Gemiddeld % zieke peulen *Average % diseased pods*
		12/6	19/6	28/6	4/7	12/7	18/7	1/8		
	A	+	+	+	+	+	+	+	0	0,0
+	B								8,3	33,6 ± 0,4
+	C	+	+	+	+	+		+	0,7	2,3 ± 0,4
+	D		+	+	+	+	+	+	1,3	0,7 ± 0,1
+	E			+	+	+	+	+	2,5	2,0 ± 0,5
+	F				+	+	+	+	5,0	4,9 ± 1,2
+	G					+	+	+	6,8	11,7 ± 0,5

Tussen de objecten C, D en E is weinig verschil, hetgeen verklaard kan worden uit de onbetekenende regenval tot 1 Juli. Daarna nam de neerslag toe en als gevolg daarvan de aantasting in die gevallen dat met de bespuitingen nog begonnen moest worden. Toch had een eerste bespuiting ruim een maand na de inoculatie nog een zeer duidelijk gunstig resultaat. Object A bleef wederom geheel vrij van aantasting (zie eveneens tabel 1). De aantasting van de objecten B in de tabellen 1 en 3 is gelijk. Merkwaardig is het kleine, doch volgens de gebruikelijk wiskundige maatstaven, betrouwbare verschil in de aantasting van de objecten C en D. Het feit, dat de bespuitingen van object D een week later zijn begonnen dan die van object C kan geen verklaring zijn voor de geringere aantasting van D. Mogelijk berust dan de oorzaak in de verschillende behandeling op 18 Juli. De verklaring zou kunnen zijn, dat een bespuiting kort na het begin van de bloei de jonge peultjes met koper bedekt en hen beschermt tegen aantasting. Een in 1945, speciaal voor het toetsen van deze veronderstelling opgezette proef werd waardeloos gemaakt door een regenrijke periode van 19 dagen vanaf het begin van de bloei, waarin sproeien onmogelijk was. Nader onderzoek zal op dit punt nodig zijn.

In 1945 werden de bovenbehandelde proeven herhaald in een zomer, die veel regen bracht en een regelmatige uitvoering van de plannen als in 1944 onmogelijk maakte. Tabel 4 vermeldt de resultaten.

TABEL 4. Invloed van het begin der bespuitingen op de verspreiding der vetvlekkenziekte
The effect of the time of spraying on the spread of halo blight

Inoculatie 9/6/45	Object	Bespoten op (*sprayed on*)					Gemiddeld % zieke peulen *average % diseased pods*
		20/6	4/7	11/7	25/7	2/8	
	A	+	+	+	+	+	0,3 ± 0,3
+	B						56,8 ± 3,4
+	C	+	+	+	+	+	1,7 ± 1,2
+	D		+	+	+	+	12,4 ± 1,2
+	E			+	+	+	21,5 ± 4,4
+	F				+	+	36,9 ± 1,8
+	G					+	51,8 ± 6,3

De objecten B van de tabellen 2 en 4 zijn geheel vergelijkbaar, de aantasting is gelijk. Object A kon niet geheel voor aantasting gevrijwaard worden in deze regenrijke zomer; de aantasting was evenwel zodanig laag, dat voor opbrengstverlaging en afkeuring van zaaizaad niet gevreesd behoefde te worden. De objecten C van tabellen 2 en 4 waren eveneens geheel vergelijkbaar; ook in hun aantasting. Er was geen betrouwbaar verschil tussen de objecten A en C in tabel 4. Dit bewijst de mogelijkheid, een goed gewas bonen te telen uit zwaar besmet zaad door middel van herhaalde bespuitingen, zelfs in zomers met veel regen. Voorwaarde is dan evenwel, de bespuitingen vroeg te beginnen. Wacht men hiermee te lang, dan neemt de aantasting hand over hand toe, zoals de verkregen cijfers demonstreren. Eén bespuiting in de eerste dagen van Augustus leverde zelfs in het geheel geen resultaat op. De objecten D van de tabellen 2 en 4 zijn beide vier maal bespoten, met dit verschil, dat hiermede in tabel 2 twee weken eerder begonnen is. Dit bleek een groot verschil in de besmetting te veroorzaken ten gunste van „vroeg beginnen".

SAMENVATTING

1. Het verwijderen van secundair zieke planten alleen is onvoldoende voor de bestrijding van de vetvlekkenziekte en het telen van gezond zaaizaad.
2. Het verwijderen van secundair zieke planten en alle binnen een straal van 1–2 meter gelegen, op het oog gezonde planten, bleek vaak eveneens onvoldoende.
3. Het uitzoeken van gezonde peulen levert gezond zaad. Dit kan vermenigvuldigd worden in een goed geïsoleerd perceel; het bespuiten met koperbevattende middelen moet noodzakelijk geacht worden.
4. Met de bespuitingen dient vroeg begonnen te worden nl. zodra de enkelvoudige bladeren volgroeid zijn.
5. De gedane proeven laten geen definitieve conclusie omtrent het noodzakelijke aantal bespuitingen toe; het resultaat is, begrijpelijkerwijze, overigens afhankelijk van de weersomstandigheden. In latere jaren is gewerkt met drie maal bespuiten met tussenpozen van twee weken. De ervaringen hiermede zijn goed geweest.
6. De resultaten van de bespuitingsproeven wijzen op de mogelijkheid uit bebesmet zaaizaad een behoorlijk gezond gewas met normale opbrengst te telen.
7. Het is niet gemakkelijk een gezond gewas te beschermen tegen besmetting van buiten af; zelfs bespuiting is niet afdoende als het weer tegenwerkt. Ruimtelijke isolatie moet noodzakelijk geacht worden.

SUMMARY

1. Roguing diseased plants is inefficient in controlling spread of halo blight.
2. Roguing diseased plants and all plants within 1 or 2 meters from them has a better effect, but is still not quite effective in eliminating the disease completely.

3. Handpicking healthy pods yields healthy seed; this may be propagated in well isolated and sprayed plots.
4. Sprayings have to be started as soon as the primary leaves are fully grown.
5. As for the number of sprayings, no final conclusions can be drawn from the experiments; further experiments are necessary. Spraying at least three times with two week intervals is recommended and so far has produced good results.
6. Spraying experiments indicate the possibility of growing a good crop from diseased seed. Yields may be normal. Though the seed obtained may not be completely healthy it may be considered suitable for seed purposes. Then, spraying of the crop grown from it will be necessary.
7. It is difficult to protect a perfectly healthy crop against attack by halo blight from adjacent diseased plots. Isolation, along with spraying, is recommended.

LITERATUUR

HÄHNE, H. – 1942. Beiträge zur Frage der Bekämpfung der durch Pseudomonas medicaginis var. phaseolicola Burkh. verursachten Fettfleckenkrankheit der Bohne. Angew. Bot. 24: 31–64.
KOOPMAN, C. – 1944. De bestrijding der vetvlekkenziekte. T. Pl.ziekten 50: 62–68.
MASTENBROEK, C. – 1943. De vatbaarheid van bonenrassen voor de vetvlekkenziekte – T. Pl.ziekten 49: 135–162.

T. Pl.ziekten 61 (1955): 35–46

ELECTRONENMICROSCOPIE VAN PAPIERCHROMATOGRAFISCH VERKREGEN FRACTIES VAN PLANTENSAPPEN UIT VIRUSZIEK EN GEZOND MATERIAAL

With a summary: Electron-microscopy of fractions obtained by paperchromatography from juices of virus diseased and healthy plants

DOOR

H. W. J. RAGETLI[1]),
Laboratorium voor Phytopathologie der Landbouwhogeschool, Wageningen

CHRISTINA VAN DER SCHEER
Laboratorium voor Natuur- en Weerkunde der Landbouwhogeschool, Wageningen

en

J. P. H. VAN DER WANT
Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

1. INLEIDING

Uit een voorgaand onderzoek met tabaksmozaïekvirus (RAGETLI & VAN DER WANT, 1954) was gebleken, dat toepassing van papierchromatografie op semi-preparatieve schaal ter verkrijging van viruspreparaten, geschikt voor electronenmicroscopisch onderzoek, perspectieven biedt. VAN DER WANT (1954) maakte dan ook reeds gebruik van deze techniek bij een studie over bonenviren.

Om de waarde der methode nader te toetsen werd zij, in het kader van het hier te bespreken onderzoek, toegepast op het sap van planten, die met een zestal uiteenlopende viren besmet waren. Gekozen werden viren, die op grond van door andere onderzoekers verricht electronenmicroscopisch onderzoek, tot onderscheiden morphologische groepen gerekend kunnen worden, nl. viren met een staafvormige-, draadvormige- of bolvormige habitus. De werkwijze alsmede de resultaten van het onderzoek worden beschreven, terwijl een deel van de verkregen electronenfoto's gereproduceerd wordt.[2])

2. METHODE EN MATERIAAL

2.1. Zoals reeds eerder beschreven is (RAGETLI & VAN DER WANT, 1954), wordt de te chromatograferen vloeistof (0,09 ml) aangebracht op een strook filtreerpapier (WHATMAN no 1) van 57 cm lang en 6 cm breed, binnen een vooraf met potlood getekende rechthoek van 3 × 4 cm, die oorsprong genoemd wordt (Fig. 1). De bovenzijde van de oorsprong bevindt zich op 6 cm van de bovenrand van de strook; de verticale zijden zijn op 1 cm van de zijkanten van de strook gelegen. Het boveneinde van de strook wordt vervolgens langs de lijn CD omgevouwen en tussen twee glasplaatjes geklemd; deze worden daarna in een

[1]) Geniet gastvrijheid op het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek.

[2]) De schrijvers willen gaarne hun dank betuigen aan Mejuffrouw S. PEL voor haar hulp bij de papierchromatografie en aan de Heer S. HENSTRA voor zijn hulp zowel bij de electronenmicroscopie als bij de vervaardiging der electronenfoto's.

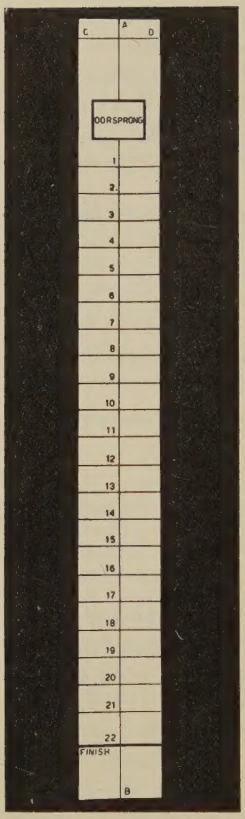


Fig. 1

porceleinen schaaltje geplaatst, waarin de ontwikkelvloeistof gebracht wordt, voordat de op de oorsprong aangebrachte vloeistof is opgedroogd. Als ontwikkelvloeistof werd in het hier te bespreken onderzoek steeds dubbel gedestilleerd water gebruikt. De vloeistof wordt tussen de glasplaatjes opgezogen, bereikt het filtreerpapier en beweegt zich hierin verder. Het porceleinen schaaltje met de tussen de glasplaatjes geklemde papierstrook bevindt zich in een ruimte, die met waterdamp verzadigd is. Nadat het vloeistoffront een lijn (finish) op 44 cm afstand van de benedenzijde van de oorsprong bereikt heeft, wordt het chromatogram gedurende 10 tot 15 minuten gedroogd in een stoof bij ongeveer 55° C. Vervolgens wordt het langs de lijn AB in tweeën geknipt en wordt één der helften in ultraviolet licht van omstreeks 265 mμ gefotografeerd. Aldus kunnen bepaalde, dit ultraviolette licht absorberende stoffen in het chromatogram gelocaliseerd worden. Daar deze stoffen, of stoffen die in het chromatogram hiermee samenvallen, bij het electronenmicroscopisch onderzoek het zichtbaar maken van de virusdeeltjes blijken te bemoeilijken, is het van belang hun plaats nauwkeurig te kennen.

Omdat tijdens het drogen van het chromatogram de besmettelijkheid van het virus, afhankelijk van de aard van dit virus, òf sterk vermindert, òf geheel verloren gaat, worden de preparaten ten behoeve van het electronenmicroscopisch onderzoek gemaakt van fracties, afkomstig van een tweede chromatogram, dat van hetzelfde sap en op volkomen gelijke wijze als het eerste vervaardigd wordt, doch dat niet gedroogd wordt. Als de ontwikkelvloeistof de finish heeft bereikt, wordt het chromatogram in een aantal zones geknipt, waarbij rekening wordt gehouden met de plaats waar de stoffen, die ultraviolet licht absorberen, zich bevinden. De stroken filtreerpapier zijn van tevoren met potlood verdeeld in 22 gelijke zones, elk van 2 cm breedte, hetgeen het verdelen van het chromatogram vergemakkelijkt (Fig. 1). Iedere zone wordt met dubbel gedestilleerd water geëxtraheerd naar een hoeveelheid van 0,5 ml per zone van 2 cm. Het filtreerpapier wordt hierbij met een glasstaaf intensief met het water in aanraking gebracht, waarna het vocht uit de aldus verkregen papierpulp in een klein trechtertje over hard filtreerpapier wordt afgezogen. Dit dient om fijne cellulosevezels uit de vloeistof te verwijderen. Van de waterheldere vloeistoffen worden electronenmicroscooppreparaten vervaardigd, waarna de overgebleven gedeelten op toetsplanten worden geïnoculeerd ten einde de virusactiviteit in de verschillende zones vast te stellen.

Werd in de eerste publicatie het gebruik van gecentrifugeerd sap beschreven, bij het onderhavige onderzoek werd ruw perssap van zieke en gezonde planten op de oorsprong aangebracht. Onder ruw perssap wordt hier verstaan sap, verkregen door plantendelen in een mortier fijn te maken en vervolgens door kaasdoek uit te persen.

Het is gebleken, dat toevoeging van KCN aan het ruwe perssap, direct na het uitpersen, tot een eindconcentratie van 0,1% een gunstige invloed heeft op het bewaren van de besmettelijkheid van verschillende plantenviren gedurende het chromatografische proces. Daarom is aan alle onderzochte ruwe perssappen KCN toegevoegd.

2.2. Het onderzoek had betrekking op sap van tabaksplanten (*Nicotiana tabacum* var. White Burley) respectievelijk besmet met tabaksmozaïekvirus (*Nicotiana-virus* 1)[1]), ratelvirus (*Nicotiana-virus* 5)[1]), aardappel X-virus (*Solanum-virus* 1)[1]), een tabaksnecrosevirus (uit de groep *Nicotiana-virus* 11)[1]), geïsoleerd uit de wortels van *Bouvardia humboldtii*, komkommermozaïekvirus (*Cucumis-virus* 1)[1]), t.w. de „gele" stam nr 6 van PRICE (1934); op sap van tomaat (*Lycopersicum esculentum* var. Ailsa Graig), besmet met bushy stunt virus (*Lycopersicum-virus* 4)[1]) en op sap van gezonde tabaksplanten var. White Burley en gezonde tomatenplanten var. Ailsa Graig.

Als proefplanten ter bepaling van de besmettelijkheid der extracten werden gebruikt: voor tabaksmozaïekvirus afgesneden bladeren van *Nicotiana glutinosa;* voor ratelvirus, aardappel X-virus en komkommermozaïekvirus planten van *Nicotiana tabacum* var. White Burley; voor tabaksnecrosevirus zowel White Burley planten als planten van *Phaseolus vulgaris* var. Beka; voor bushy stunt virus ten slotte planten van *Vigna sinensis*.

3. RESULTATEN VAN HET ONDERZOEK

3.1. *Tabaksmozaïekvirus*

Fig. 2A geeft een electronenfoto van een preparaat vervaardigd van het waterige extract van zone 16–20 (zie Fig. 1) uit een papierchromatogram, gemaakt van het ruwe sap van met tabaksmozaïekvirus besmette White Burley planten. In het vergelijkingschromatogram bevond zich een ultraviolet licht absorberende vlek in de zone van 6–15,5. Naast een groot aantal staafvormige deeltjes van een opvallend uniforme lengte komen op de electronenfoto kleine, onregelmatig gevormde, partiekeltjes voor.

3.2. *Ratelvirus*

Fig. 2B geeft een electronenfoto van een preparaat, vervaardigd van het waterige extract van zone 7–11 uit een chromatogram, gemaakt van het ruwe sap van met ratelvirus besmette White Burley planten. In het vergelijkingschromatogram bevond zich een ultraviolet licht absorberende vlek in de zone van 11–18. Tegen een zeer gelijkmatige achtergrond tekent zich een aantal staafvormige deeltjes scherp af. In tegenstelling tot de uniformiteit van de deeltjes in het tabaksmozaïekviruspreparaat kunnen de hier weergegeven deeltjes in drie lengte-groepen worden ingedeeld. Voorts komen enige zeer kleine, onregelmatige deeltjes op de foto voor.

3.3. *Aardappel X-virus*

Fig. 3A geeft een electronenfoto van een preparaat, vervaardigd van het waterige extract van zone 4–8 uit een chromatogram, gemaakt van het ruwe sap van met X-virus besmette White Burley planten. In het vergelijkingschromato-

[1]) Volgens de nomenclatuur van SMITH (1937).

gram bevond zich een ultraviolet licht absorberende vlek in de zone van 13–19. Tussen een groot aantal, over het gehele gezichtsveld voorkomende, onregelmatige, kleine lichaampjes, die soms in hoopjes bijeen liggen, bevinden zich draadvormige deeltjes. Het is opvallend, dat deze draadvormige deeltjes alle van ongeveer gelijke lengte zijn.

3.4. *Tabaksnecrosevirus*

Fig. 3 B geeft een electronenfoto van een preparaat, vervaardigd van het waterige extract van zone 15–18,5 uit een chromatogram, gemaakt van het ruwe sap van met tabaksnecrosevirus besmette White Burley planten. Fig. 3C heeft betrekking op het extract van zone 6–9,5 van hetzelfde chromatogram. In het vergelijkingschromatogram bevond zich een ultraviolet licht absorberende vlek in de zone 10–18.

In Fig. 3B komen verspreid uniforme, bolvormige deeltjes voor naast, en ten dele als het ware ingebed, in een substantie van onduidelijke, deels korrelige, structuur. Waarschijnlijk is deze substantie in haar geheel of voor een deel aansprakelijk voor de sterke ultraviolet absorptie, die in het gedroogde chromatogram in deze zone geconstateerd werd. In Fig. 3C daarentegen tekenen deze bolvormige deeltjes zich veel duidelijker, zij het in geringer aantal, tegen een gladdere achtergrond af. Het verschil tussen Fig. 3B en 3C is, wat betreft het aantal bolvormige deeltjes, geheel in overeenstemming met het verschil in infectieusiteit van de beide extracten, waarvan de betreffende electronenpreparaten vervaardigd werden. Behalve genoemde bolvormige deeltjes kunnen in Fig. 3C ook veel kleinere, min of meer ronde lichaampjes worden waargenomen.

3.5. *Komkommermozaïekvirus*

Bij de vergelijking van de electronenfoto's, vervaardigd van de extracten van vier zones uit een chromatogram, gemaakt van ruw sap van met komkommervirus besmette White Burley planten, bleken vooral in zone 0,5–3 kleine, min of meer hoekige, partiekeltjes voor te komen. Fig. 4A geeft zo'n electronenfoto van een preparaat, vervaardigd van het extract uit zone 0,5–3. In het vergelijkingschromatogram bevond zich een ultraviolet licht absorberende vlek in zone 11–19. Hoewel de in Fig. 4A voorkomende, eerder genoemde partiekeltjes door hun weinig sprekende gedaante niet erg opvallen, werd aan deze om verschillende redenen toch de besmettelijkheid van het sap toegeschreven. Het extract van zone 0,5–3 bleek nl. bij inoculatieproeven sterk infectieus te zijn, terwijl in preparaten, gemaakt van het extract van een overeenkomstige zone uit een chromatogram van sap van gezonde White Burley planten, deeltjes ter grootte van die, voorkomend in ziek materiaal, niet werden aangetroffen; zie Fig. 4B.

Het geringere aantal specifieke deeltjes in de electronenfoto's van de preparaten der extracten van de andere zones uit het chromatogram, gemaakt van het sap uit met komkommermozaïekvirus besmette White Burley planten, is bovendien in overeenstemming met de geringere besmettelijkheid van die extracten.

3.6. *Bushy stunt virus*

Fig. 5A geeft een electronenfoto van een preparaat, vervaardigd van het waterige extract van zone 20–22 uit een chromatogram, gemaakt van ruw sap van met bushy stunt virus besmette tomatenplanten (var. Ailsa Craig). In het

vergelijkingschromatogram bevond zich een ultraviolet licht absorberende vlek in de zone 11–18,5. Tegen een vrij gladde achtergrond tekenen zich talrijke, meest afzonderlijk liggende, lichaampjes duidelijk af. Ook komt het voor dat twee, en een enkele keer zelfs meer deeltjes tegen elkaar aanliggen. Oppervlakkig bezien, zijn deze lichaampjes bolvormig. Bij nadere beschouwing blijkt de omtrek echter hoekig. Dit komt vooral in een detailvergroting, in Fig. 5B weergegeven, tot uiting. Verschillende van de in Fig. 5B voorkomende deeltjes geven bovendien nog een zekere grijs-wit tekening te zien, die op een polyëdrische vorm van de ingedroogde lichaampjes zou kunnen wijzen, dan wel een samengesteld karakter zou kunnen verraden.

3.7. *Gezonde tabak en tomaat*

Fig. 4B geeft een electronenfoto van een preparaat, vervaardigd van het waterige extract van zone 0,5–3 uit een chromatogram van ruw sap van gezonde White Burley planten. In het vergelijkingschromatogram bevond zich een ultraviolet licht absorberende vlek in zone 9–17. Tegen een egale en vrij gladde achtergrond tekenen zich enkele verspreide, zeer kleine, deeltjes af.

Fig. 5C geeft een electronenfoto van een preparaat, vervaardigd van het waterige extract van zone 20–22 uit een chromatogram van ruw sap van gezonde tomatenplanten. In het vergelijkingschromatogram bevond zich een ultraviolet licht absorberende vlek in de zone 10,5–18. De sporadisch op de foto voorkomende deeltjes hebben noch de grootte noch de vorm van de specifieke deeltjes, die in zo groten getale in het extract van de overeenkomstige zone uit het chromatogram van het sap van bushy stunt viruszieke tomatenplanten, werden aangetroffen.

4. NABESPREKING

Uit de hiervoren weergegeven resultaten kan worden besloten, dat de beschreven papierchromatografische fractionering van ruwe perssappen uit viruszieke en gezonde planten zeer geschikt is voor de vervaardiging, op eenvoudige wijze, van goede preparaten voor electronenmicroscopisch onderzoek. Op deze wijze konden immers in het ruwe perssap van tabaksplanten, respectievelijk besmet met tabaksmozaïekvirus, aardappel X-virus, tabaksnecrovirus en komkommermozaïekvirus en van tomatenplanten, besmet met bushy stunt virus, voor elk dezer ziekten kenmerkende deeltjes worden aangetoond. Het bijzonder zachtaardige karakter der papierchromatografische methode schijnt bovendien tot gevolg te hebben, dat deze voor de verschillende virusziekten kenmerkende deeltjes zich in de electronenopnamen doorgaans als enkelvoudige, althans weinig geaggregeerde, lichaampjes voordoen.

De in het sap van tabaksmozaïekzieke tabaksplanten voorkomende deeltjes beantwoorden aan het beeld, dat sedert het eerste electronenmicroscopische onderzoek van het tabaksmozaïekvirus door Kausche, Pfankuch & Ruska (1939) bekend is. De in Fig. 2A gereproduceerde electronenfoto vertoont echter deeltjes, uniformer van lengte en meer in overeenstemming met de electronenfoto's, die door Sigurgeirsson & Stanley (1947) van tabaksmozaïekvirus zijn gepubliceerd. De door laatstgenoemde auteurs verkregen electronenfoto's waren vervaardigd van sap, dat na voorafgaande bevriezing en ontdooiing van de planten werd verkregen en dat vervolgens met water 50 maal werd verdund.

Aldus werden preparaten verkregen, die betrekkelijk veel bijmengsels bevatten, terwijl de dichtheid van de staafvormige deeltjes, in vergelijking met Fig. 2A, aanzienlijk minder was. Aangaande de wijze van isoleren is zowel de methode van SIGURGEIRSSON & STANLEY als de hier beschreven methode zeer zachtaardig; de door de Amerikaanse onderzoekers toegepaste methode zal echter vooral bij viren, die in een lage concentratie in het sap voorkomen, tot minder fraaie resultaten leiden.

Het voorkomen van betrekkelijk kleine, staafvormige deeltjes in het sap van tabaksplanten,besmet met ratelvirus, is in overeenstemming met het resultaat van eerder verricht onderzoek door VAN DER WANT & ROZENDAAL (1948) aan, met behulp van ammoniumsulfaat gezuiverde, ratelviruspreparaten. Staafvormige deeltjes met een lengte gelijk aan of groter dan het grootste deeltje, dat in Fig. 2B zichtbaar is, werden in de met papierchromatografie verkregen preparaten sporadisch waargenomen. Hoewel nader onderzoek hierover wenselijk is, werd de indruk verkregen, dat in het met ammoniumsulfaat gezuiverde ratelvirus een groter aantal langere deeltjes voorkomen dan in de met papierchromatografie verkregen fracties. Mogelijk is dit toe te schrijven aan de aggregatie van kleinere deeltjes onder invloed van de hoge ammoniumsulfaatconcentraties.

De neiging tot aggregatie van aardappel X-virusdeeltjes is zeer sterk onder invloed van centrifugeren bij hoog toerental (TAKAHASHI & RAWLINGS, 1946) of van ammoniumsulfaat (KLECZKOWSKI & NIXON, 1950). Fig. 3A laat duidelijk zien, dat de papierchromatografische fractionering de vorming van dergelijke aggregaten kennelijk verhindert, gezien de afzonderlijke ligging en de vrij uniforme lengte der afgebeelde draadjes. De deeltjes uit Fig. 4A komen sterk overeen met de deeltjes, die BODE & KÖHLER (1952) in het bloedingssap van met X-virus besmette Samsun-tabaksplanten waarnamen.

Tabaksnecroseviren zijn electronenmicroscopisch door BAWDEN & NIXON (1951) onderzocht. Deze auteurs onderscheidden op grond van de diameter der deeltjes verschillende typen van viren. Merkwaardig is, dat in het sap van met één der tabaksnecroseviren, het zg. Rothamsted tabaksnecrosevirus. besmette tabaksplanten twee typen van deeltjes met verschillende diameter konden worden aangetoond, althans in gezuiverde viruspreparaten. De in Fig. 3B en 3C voorkomende bolvormige deeltjes uit het sap van White Burley planten, besmet met een tabaksnecrosevirus, geïsoleerd uit *Bouvardia*-wortels, zijn alle van gelijke diameter. Hun vorm sluit aan bij die der door de andere auteurs onderzochte isolaties van tabaksnecrosevirus.

De electronenfoto's, die betrekking hebben op de gele stam nr 6 van PRICE van komkommermozaïekvirus (*Cucumis-virus* 1) hebben aangetoond, dat de virusdeeltjes, wanneer zij langs papierchromatografische weg uit het sap van zieke White Burley planten worden geïsoleerd, zeer geringe afmetingen hebben. Immers omdat het extract afgebeeld in Fig. 4A, een sterke besmettelijkheid bezat, werden de in deze foto voorkomende, kleine, enigszins hoekige, lichaampjes wel als dragers van de besmettelijkheid beschouwd, temeer daar deze deeltjes in gezond materiaal ontbraken. Een rechtstreekse vergelijking van de hier gereproduceerde electronenfoto met die, welke door andere onderzoekers werden verkregen, is niet wel mogelijk. SILL, BURGER, STAHMANN & WALKER (1952) hebben studie gemaakt van de deeltjes, voorkomend in het perssap uit bloemkronen van komkommerplanten, besmet met een andere stam van

Cucumis-virus 1 dan de hier gebruikte. Dit sap werd na verdund te zijn bij een matig toerental (9000 × G) gedurende 80 minuten gecentrifugeerd. Vervolgens werden van de bovenstaande vloeistof preparaten voor electronenmicroscopisch onderzoek gemaakt. De genoemde auteurs vonden naast aggregaten min of meer bolvormige deeltjes (diam. ± 35 mμ), vooral indien het sap vrij sterk verdund werd, nl. 1 op 50 of meer. NOORDAM (1952) werkte met een vorm van *Cucumis-virus* 1, verantwoordelijk voor een mozaïekziekte bij chrysant, die op tabak kon worden overgebracht. Ook hij vond kleine ronde deeltjes, die soms tot grotere aggregaten waren samengebald. De door DE BRUYN OUBOTER, BEYER & VAN SLOGTEREN (1951) gepubliceerde foto, die betrekking heeft op hetzelfde virus als waarmee NOORDAM werkte, vertoont vrij grove, min of meer ronde deeltjes. Enkele dezer deeltjes suggereren, dat zij samengesteld zijn uit kleinere lichaampjes.

De in Fig. 5A voorkomende lichaampjes, die uit het ruwe sap van met bushy stunt virus besmette tomatenplanten geïsoleerd werden door papierchromatografische fractionering, komen overeen met die welke PRICE, WILLIAMS & WYCKOFF (1946) verkregen d.m.v. gedifferentieerd centrifugeren. Hoewel genoemde auteurs de vorm der deeltjes als bolletjes omschrijven, moet deze bij nauwkeurige beschouwing van Fig. 5A en vooral van 5B als duidelijk hoekig worden aangeduid. BRAKKE, VATTER & BLACK (1954) menen voor een plantaardig wound tumor virus aan de hand van electronen-foto's tot een polyaedrische vorm te mogen besluiten op grond van de hoekigheid dezer deeltjes zelf en het tot op zekere hoogte hoekige karakter van hun schaduw. Hoewel de vorm van de schaduwbeelden der bushy stunt virusdeeltjes in Fig. 5A en 5B door de geringe afmetingen moeilijker te beoordelen is dan bij het genoemde wound tumor virus – dit virus is nl. 3 maal zo groot als het bushy stunt virus – wordt ook hier soms een zekere hoekigheid gesuggereerd. Het lijkt echter geboden, alvorens de vorm van de ingedroogde bushy stunt virusdeeltjes definitief als een polyëder te betitelen, hierover nader onderzoek te verrichten.

De voor de verschillende virusziekten specifieke deeltjes konden slechts als dragers der infectieusiteit worden herkend vanwege het ontbreken van hierop gelijkende deeltjes in overeenkomstig behandeld, vergelijkbaar, gezond materiaal Voor komkommermozaïekvirus en bushy stunt virus blijkt dit uit de electronenfoto's, weergegeven resp. in Fig. 4B en 5C. De preparaten, vervaardigd van de extracten van de verschillende zones uit chromatogrammen van gezond sap, maakten in het algemeen, met uitzondering van wat verspreid voorkomend korrelig materiaal, een vrij lege indruk. Alleen die welke vervaardigd waren van extracten van de zone, die de ultraviolet licht absorberende stoffen bevatte, vertoonden een grote hoeveelheid amorf materiaal, waardoor het vlies van het electronenpreparaat min of meer als met een sliblaag bedekt lijkt.

5. SAMENVATTING

Een eenvoudige papierchromatografische fractionering, op semipreparatieve schaal, van onbehandeld vers perssap van met verschillende viren besmette tabaks- en tomatenplanten, leidde tot de vervaardiging van electronenmicroscopische opnamen, waarop de voor de verschillende virusziekten kenmerkende deeltjes duidelijk te onderscheiden zijn. Het onderzoek had betrekking op de volgende viren: tabaksmozaïekvirus, ratelvirus, aardappel X-virus, tabaks-

necrosevirus en komkommermozaïekvirus op tabak en bushy stunt virus op tomaat.

6. SUMMARY

A simple technique for the isolation of tobacco mosaic virus by paper chromatography, on a semi preparative scale, was described recently (RAGETLI & VAN DER WANT, 1954). By this technique virus was isolated easily from plant sap which had been centrifuged previously at low speed. The method was also applied in studies of bean (*Phaseolus vulgaris*) viruses (VAN DER WANT, 1954) using centrifuged and uncentrifuged sap.

As described in these papers, chromatography was carried out at room temperature on paper strips of Whatman no 1 filter paper, 57 cm long and 6 cm wide. A sample of 0.09 ml of the sap to be chromatographed was added to the strip in a pencil-indicated area 4 cm wide and 3 cm long. This area, called the origin (= „oorsprong"), was situated 6 cm from the top and 1 cm from the sides (Fig. 1). The strip of paper was folded along the line CD 1.5 cm below the top and this edge was clasped between two glass plates, which were placed in a porcelain dish. The dish with the suspended strip was then placed in a cabinet with an atmosphere saturated with water, and twice distilled water was added to the dish immediately to prevent drying of the sample on the strip. The water ascended between the glass plates and was sucked off by the filter paper. When the water front had reached the line called finish in Fig. 1, the chromatogram was dried at about 55°C, cut into halves lengthwise, along the line AB, and one half was photographed by contact printing in ultraviolet light (U.V.) of about 265 mμ (bandwidth 6.6 mμ) in order to locate U.V. absorbing substances in the chromatogram. Since these compounds or other compounds, which were situated in the same area of the chromatogram might hinder the visualization of the virus particles in electron microscopy, it was important to localize them exactly.

A second chromatogram from the same sap was developed in a similar way and cut into several zones while still wet. To facilitate this the paper strip had been marked before use into 22 parts of 2 cm each (Fig. 1). A standard quantity of twice distilled water (0.5 ml per 2 cm of chromatogram) was added to each section to prepare an extract. The wet pieces of paper were crushed with a glass rod and the liquid separated from the pulp by filtering through a hard filter paper to remove cellulose fibers. Electron microscope preparations on formvar screens were made from the filtrates and after drying shadowed with palladium. Immediately after the preparation of the electron microsope specimens the remaining liquids were used in inoculation tests.

In the present work the merits of the technique with respect to electron microscopy were tested on the following viruses: tobacco mosaic virus (*Nicotiana virus* 1)[1]), tobacco rattle virus (*Nicotiana virus* 5)[1]), potato virus X (*Solanum virus* 1)[1]), a tobacco necrosis virus (from the group *Nicotiana virus* 11)[1]) originally isolated from the roots of *Bouvardia humboldtii*, cucumber mosaic virus (*Cucumis virus* 1)[1]), yellow strain no 6 of PRICE, 1934), all cultured in *Nicotiana tabacum* var. White Burley, and bushy stunt virus (*Lycopersicum virus* 4)[1]) cultured in *Lycopersicum esculentum* var. Ailsa Craig. These rod-like, thread-like or spherical viruses were chosen, because their morphology was known from earlier investigations by other workers.

[1]) According to the nomenclature of SMITH (1937).

Immediately after harvesting, leaves of the diseased plants and of healthy control plants were crushed with pestle and mortar and squeezed through cheese cloth. To the green sap KCN solution (1 % w/v) was added to a final concentration of 0.1 %, and thereafter the sap was added to the filter paper.

Infectivity of extracts from chromatograms of tobacco mosaic virus was tested on detached *Nicotiana glutinosa* leaves. Extracts from chromatograms of rattle virus, potato virus X, tobacco necrosis virus, and cucumber mosaic virus were tested on plants of White Burley tobacco; those of tobacco necrosis virus were also tested on *Phaseolus vulgaris* var. Beka and those of bushy stunt virus were tested on *Vigna sinensis*.

The electron micrograms reproduced in Fig. 4A, 5A and 5B show characteristic particles detected in extracts from specific zones of chromatograms to which crude sap from diseased plants had been applied. Extracts from corresponding parts of chromatograms on which samples of crude sap from healthy plants were placed, did not reveal similar particles (Fig. 4B and 5C). Further details about the extracts from which the photographs were prepared are listed in Table I.

The rod-like particles represented in Fig. 2A, as well as the thread-like particles in Fig. 3A show a striking uniformity in length. The rattle virus preparation on the other hand revealed rod-like particles belonging to three groups of different length (Fig. 2B).

Fig. 3B shows scattered spherical particles more or less embedded in a partly granular mass. This mass consisted at least partly of the U.V. absorbing material which was present in the zone from which the extract was made. Fig. 3C shows on the other hand few spherical particles against a smooth background. The difference in the number of spherical particles in the two zones agreed exactly with the results of the infectivity tests.

The microgram reproduced in Fig. 4A reveals only very small, rather irregular particles. As the extract from which the mount was prepared showed a high infectivity, and no similar particles had been found in the comparable preparation of a healthy plant (Fig. 4B) they were considered specific for cucumber mosaic.

Table I. Paper chromatograms of sap from diseased and healthy plants. Location of zones containing substances absorbing ultraviolet light (λ = 265 mμ) and of zones used for electron microscopy

source	zone with U.V. absorbing substances	zone from which extract was taken for electron microscopy	no. of reproduced microgram
tobacco mosaic virus in tobacco plant	6–15.5	16–20	2A
rattle virus in tobacco plant	11–18	7–11	2B
potato virus X in tobacco plant	13 -19	4– 8	3A
tobacco necrosis virus in tobacco plant	10–18	15–18.5	3B
tobacco necrosis virus in tobacco plant		6–9.5	3C
cucumber mosaic virus, yellow strain no. 6 in tobacco plant	11–19	0.5– 3	4A
bushy stunt virus in tomato plant	11–18.5	20–22	5A, 5B [1]
healthy tobacco plant	9–17	0.5– 3	4B
healthy tomato plant	10.5–18	20–22	5C

[1] Fig. 5B is an enlargement of a part of the microgram reproduced in Fig. 5A.

Fig. 5A shows many particles of uniform size and of a polygonal outline. This can be seen better in Fig. 5B, which gives part of Fig. 5A in greater magnification.

The rod-like particles from Fig. 2A, isolated from the crude sap of a tobacco mosaic virus diseased tobacco plant, show the familiar appearance, well known since the early microscopic work of KAUSCHE, PFANKUCH & RUSKA (1939). However, the particles in the microgram published here are more uniform in length and agree better with those shown by SIGURGEIRSSON & STANLEY (1947). Nevertheless the number of particles in their photographs was smaller than in the present while the amount of contaminants seemed to have been higher. While their method was also easy and harmless the present technique seems more suitable, especialy in cases of low virus concentration.

The particles from tobacco plants diseased with rattle virus, resemble those isolated by ammonium sulphate precipitation (VAN DER WANT & ROZENDAAL, 1948). Preparations obtained by the salting-out procedure seemed to contain more rod-like particles with a length resembling that of the longest particle in Fig. 2B. This may be due to an aggregating effect of the salt.

End-to-end aggregation of particles is also known from potato virus X (TAKAHASHI & RAWLINS, 1946; KLECZKOWSKI & NIXON, 1950). Fig. 3A clearly shows that paper chromatography prevented aggregation during this process of isolation. The particles greatly resemble in size those obtained by BODE & KÖHLER (1952).

The spherical particles in Fig. 3B and 3C are reminiscent of certain isolates of tobacco necrosis virus studied by BAWDEN & NIXON (1951). Unlike their so-called Rothamsted tobacco necrosis virus which showed two definite particle sizes, the present isolate was of uniform dimensions.

Fig. 4A demonstrates that cucumber mosaic virus particles isolated by paper chromatography are very small. It remains to be shown whether or not the small particles present in this microgram are correlated with infectivity. Direct comparison of this picture with photographs published by other authors is not justified because the strain used in the present investigation differed from previously studied strains. SILL, BURGER, STAHMANN & WALKER (1952) working with a common strain of cucumber mosaic virus, obtained electron micrograms showing aggregates but also spherical particles with a diameter of approximately 35 mμ NOORDAM (1952) studying a type of cucumber mosaic virus isolated from *Chrysanthemum indicum*, found small, more or less spherical particles (20–50 mμ) together with aggregates. The microgram published by DE BRUYN OUBOTER, BEIJER & VAN SLOGTEREN (1951) from the same virus examined by NOORDAM, showed rather large spheres, some of which suggest a complex nature.

The specific particles represented in Fig. 5A superficially resemble those isolated by PRICE, WILLIAMS & WYCKOFF (1946) but, instead of being spherical, the particles from Fig. 5A and 5B clearly show a polygonal outline. BRAKKE, VATTER & BLACK (1954) detected a similar polygonal outline in wound tumor virus particles and angular shapes in their shadows, and interpreted them as polyheders of diameters from 70–85 mμ. Whether the bushy stunt virus particles in Fig. 5A and 5B are really polyhedral or not, requires further study.

The particles specific for the various virus diseases were not present in similar parts of chromatograms from comparable healthy plant sap. Fig. 4B and 5C demonstrate this for two zones. Extracts from parts of chromatograms from

healthy sap generally proved rather „empty" when examined in the electron microscope. Extracts from zones containing U.V. absorbing substances revealed a large quantity of amorphous material.

The results indicate that the paper chromatographic technique provides a valuable and easy method of preparing certain plant viruses for electron microrscopy. Moreover its harmless character seems to result in less, if any, aggregation of the particles specific for the studied virus diseases.

LITERATUUR

Bawden, F. C. & Nixon, H. L. – 1951. The application of electron microscopy to the study of plant viruses in unpurified plant extracts. J. gen. Microbiol. **5**:104–109.

Bode, O. & Köhler, E. – 1952. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Kartoffel-X- und Tabakmosaik-Virus. Z. Naturforsch. 7b: 598–600.

Brakke, M. K., Vatter, A. E., Black, L. M. – 1954. Size and shape of wound tumor virus. Abnormal and pathological plant growth Brookhaven symposia in Biology No. **6**:137–156.

Bruyn Ouboter, M. P. de, Beyer, J. J. & Slogteren, E. van – 1951. Diagnosis of plant diseases by electron-microscopy. Antonie van Leeuwenhoek **17**:189–208.

Kausche, G. A., Pfankuch, E. & Ruska, H. – 1939. Die Stichtbarmachung von pflanzlichem Virus im Übermikroskop. Naturwissenschaften **27**:292–299.

Kleczkowski, A. & Nixon, H. L. – 1950. An electron microscope study of potato virus X in different states of aggregation. J. gen. Microbiol. **4**:220–224.

Noordam, D. – 1952. Virusziekten bij chrysanten in Nederland. T. Pl. ziekten **58**:121–189.

Price, W. C. – 1934. Isolation and study of some yellow strains of cucumber mosaic. Phytopath. **24**:743–761.

Price, W. C., Williams, R. C., Wyckoff, R. W. G. – 1946. Electron micrographs of crystalline plant viruses. Arch. Biochem. **9**:175–185.

Ragetli, H. W. J. & Want, J. P. H. van der – 1954. Paper chromatography of plant viruses. Proc. Kon. Ned. Ak. v. Wet. Ser C. 57; 621–627.

Sigurgeirsson, T. & Stanley, W. J. – 1947. Electron microscope studies on tobacco-mosaic virus. Phytopath. **37**:26–38.

Sill, W. H. Jr, Burger, W. C., Stahmann, M. A., Walker, J. C. – 1952. Electron microscopy of cucumber virus 1. Phytopath. **42**:420–422.

Smith, K. M. – 1937. A textbook of plant virus diseases, London, J. & A. Churchill Ltd.

Takahashi, W. N. & Rawlins, T. E. – 1946. An electron microscope study of two strains of potato X-virus. Am. J. Bot. **33**:740–742.

Want, J. P. H. van der & Rozendaal, A. – 1948. Electronen-microscopisch onderzoek van het virus, dat de ratelziekte van de tabak en het stengelbont van de aardappel veroorzaakt. T. Pl. ziekten **54**:134–141.

Want, J. P. H. van der – 1954. Onderzoekingen over virusziekten van de boon (Phaseolus vulgaris L.). Med. I.P.O. (Wageningen), nr. 85.

VERKLARING DER FIGUREN

Explanation of Figures

De in de figuren afgebeelde viren werden alle langs papierchromatografische weg uit ruwe plantensappen geïsoleerd. De witte strepen in de foto's geven een afstand van 1 μ aan. Alle opnamen werden gemaakt met een PHILIPS electronenmicroscoop, type voor 100 KV.

All viruses reproduced in the figures were isolated by paper chromatography from crude plant juices. The white lines in the photographs indicate a distance of 1 μ. All photographs were made with the PHILIPS *electron microscope, 100 KV type.*

FIG. 2A. Staafvormige tabaksmozaïekvirusdeeltjes uit het ruwe sap van met dit virus besmette white burley tabak. Vergroting 25.000 ×.

Rodlike T.M.V. particles from crude sap of diseased white burley tobacco. Magnification 25,000 ×

FIG. 2B. Staafvormige ratelvirusdeeltjes van uiteenlopende lengte uit het ruwe sap van met dit virus besmette white burley tabak. Vergroting 25.000 ×.

Rodlike rattle virus particles of different length from crude sap of diseased white burley tobacco. Magnification 25,000 ×.

FIG. 3A. Draadvormige aardappel X-virus deeltjes uit het ruwe sap van met dit virus besmette white burley tabak. Vergroting 25.000 ×.

Threadlike potato X-virus particles from crude sap of diseased white burley tobacco. Magnification 25,000 ×.

FIG. 3B en 3C. Bolvormige deeltjes van een tabaksnecrosevirus uit het ruwe sap van met dit virus besmette white burley tabak. Foto's genomen van extracten van twee verschillende zônes van een zelfde chromatogram. Vergroting 25.000 ×.

Spherical particles of a tobacco necrosis virus from crude sap of diseased white burley tobacco. Photographs taken from extracts of 2 different zones of the same chromatogram. Magnification 25,000 ×.

FIG. 4A. Komkommermozaïekvirus uit het ruwe sap van met dit virus besmette white burley tabak. De diameter van de enigszins hoekige deeltjes varieert van 20–50 mμ. Vergroting 25.000 ×.

Cucumber virus 1 from crude sap of diseased white burley tobacco. Diameter of the somewhat angular particles varies from 20–50 mu. Magnification 25,000 ×.

FIG. 4B. Bestanddelen uit het ruwe sap van gezonde white burley planten. Vergroting 25.000 ×. De zones, die de extracten voor deze foto en voor die van Fig. 4A opleverden, waren genomen uit overeenkomstige delen der chromatogrammen.

Substances from crude sap of healthy white burley tobacco. Magnification 25,000 ×. *Zones which delivered extracts for photographs reproduced in this Fig. and in Fig. 4A were taken from corresponding sections of chromatograms.*

Fig. 5A, B. Bushy stunt virusdeeltjes uit het ruwe sap van met dit virus besmette tomatenplanten. Fig. 5B is een detailvergroting van Fig. 5A. Let op de duidelijk veelhoekige omtrek van vele deeltjes, vooral in Fig. 5B. Vergroting Fig. 5A: 40.000 ×. Vergroting Fig. 5B: 80.000 ×.

Bushy stunt virus particles from crude sap of diseased tomato plants. Fig. 5B is part of Fig. 5A in greater magnification. Notice the polygonal outline of many particles especially in Fig. 5B. Magnification 5A: 40,000 ×, *Fig. 5B: 80,000.*

FIG. 5C. Bestanddelen uit het ruwe sap van gezonde tomatenplanten. Vergroting 40.000 ×. De zones, die de extracten voor deze foto en voor die van Fig. 5A opleverden, waren genomen uit overeenkomstige delen der chromatogrammen.

Substances from crude sap of healthy tomato plants. Magnification 40,000 ×. *Zones which delivered extracts for photographs reproduced in this Fig. dan Fig. 5A were taken from corresponding sections of chromatograms.*

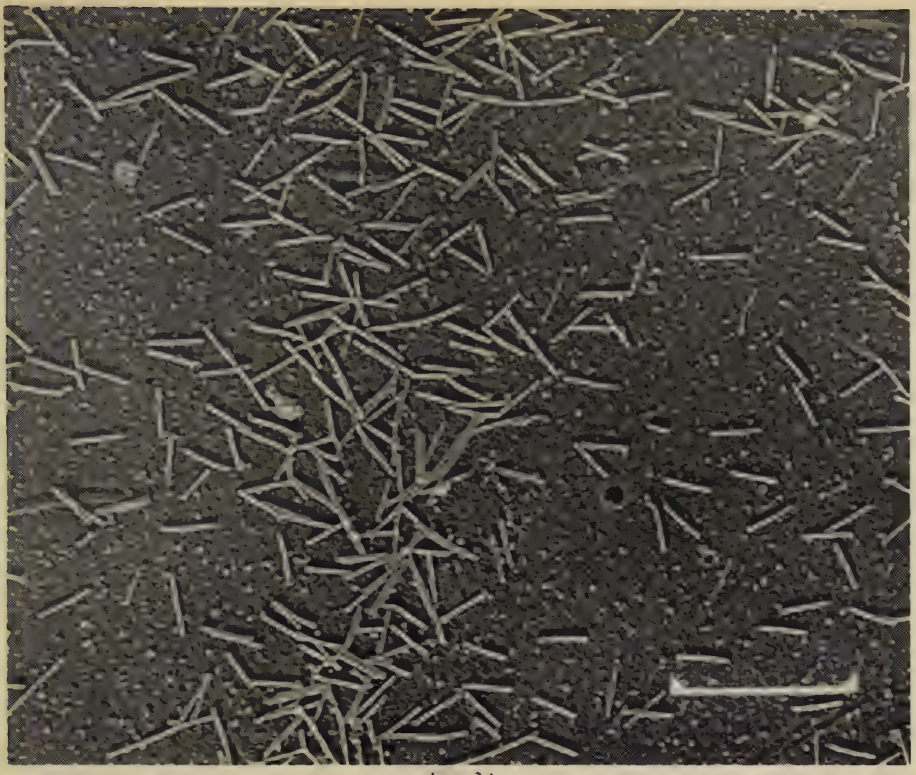


Fig. 2A

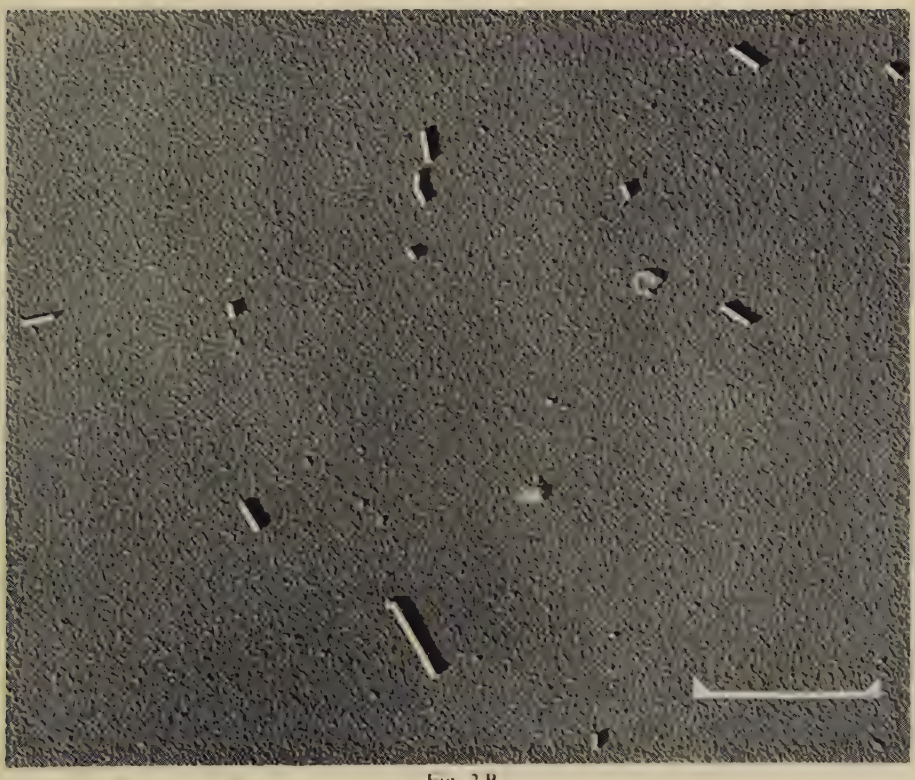


Fig. 2B

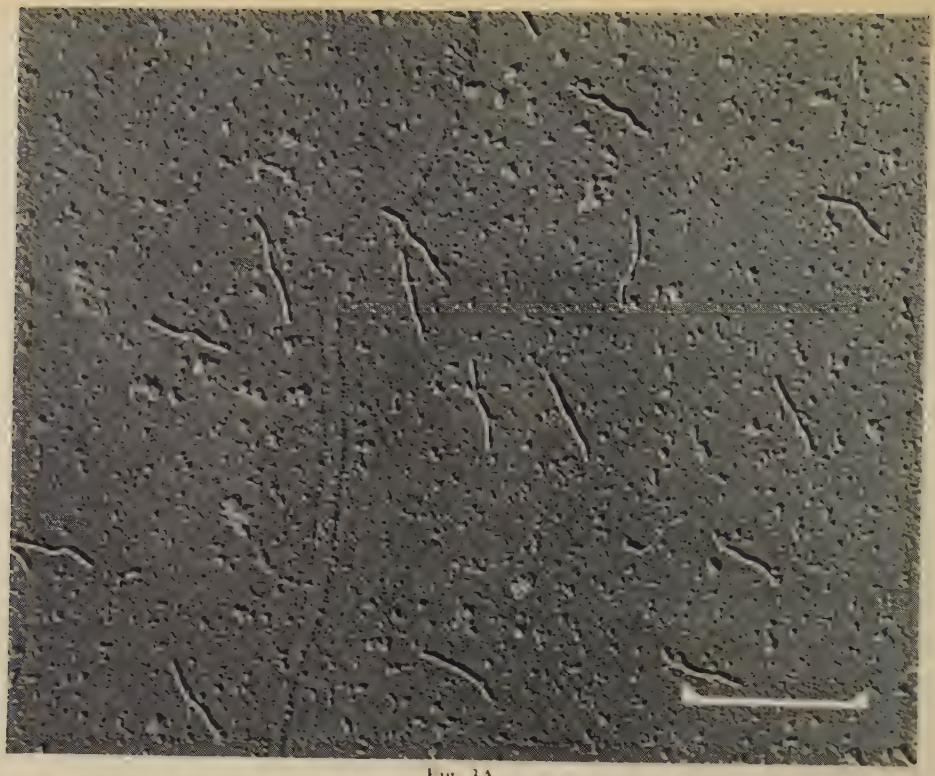


Fig. 3A

Fig. 3B

Fig. 3C

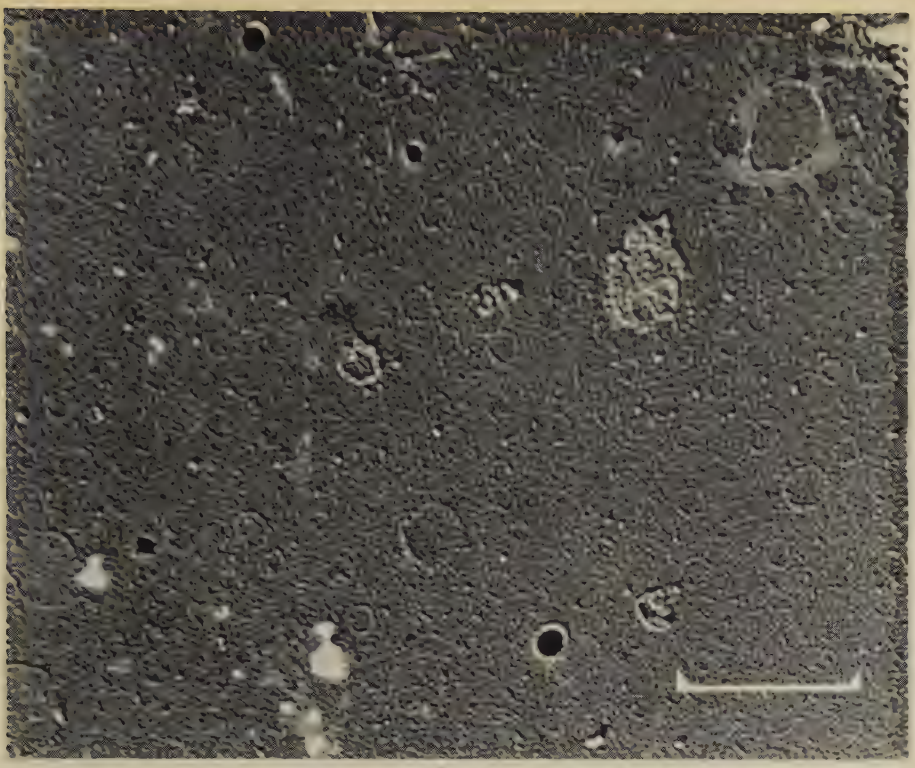


Fig. 4A

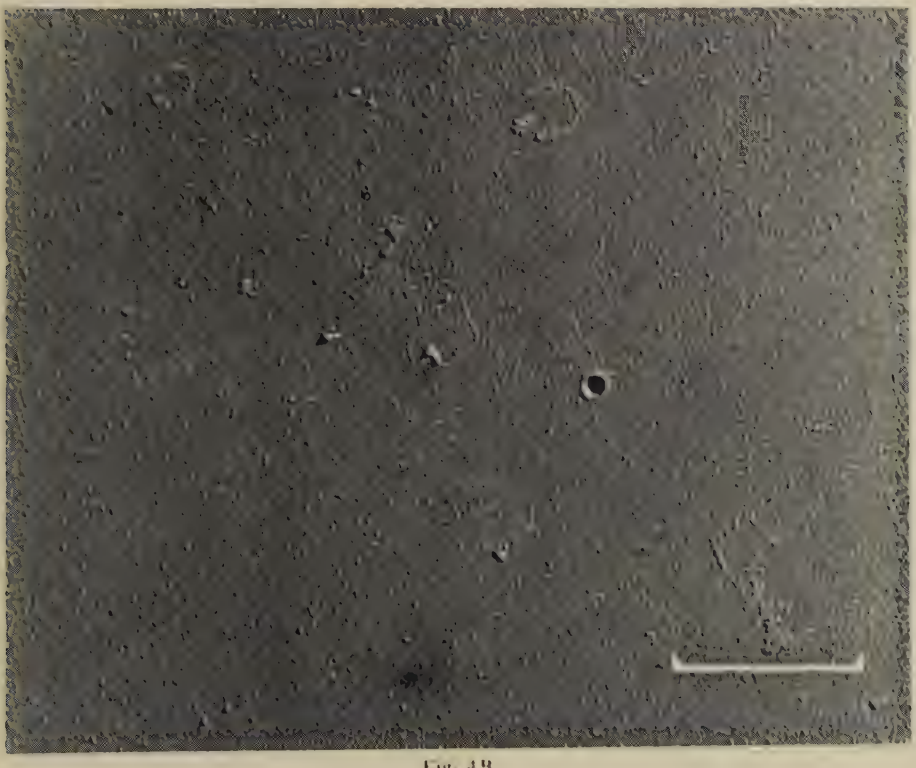


Fig. 4B

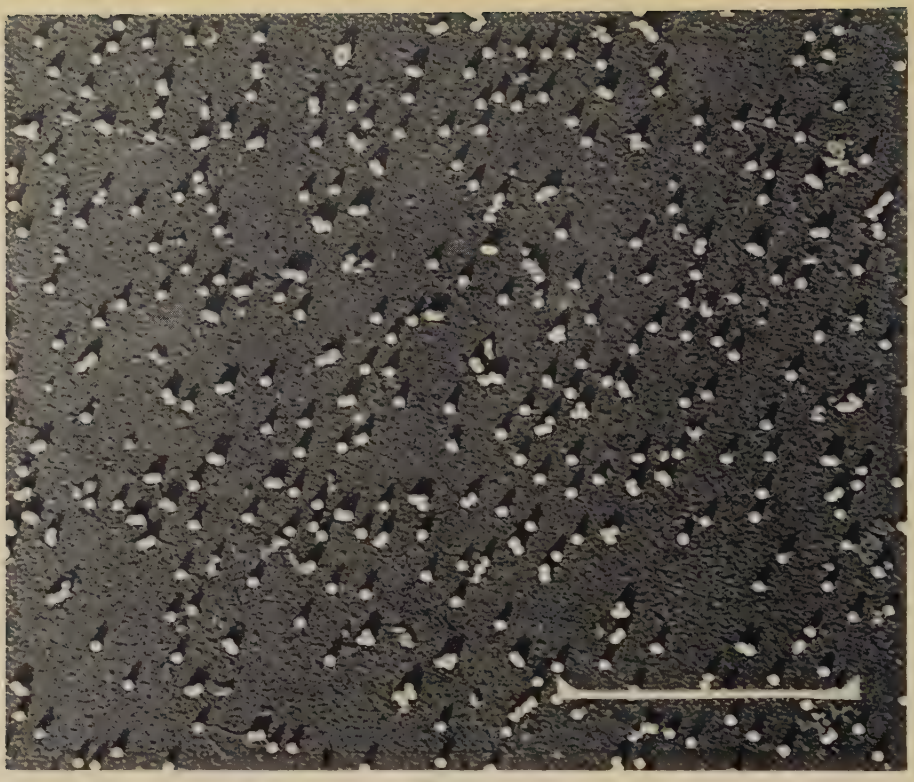


Fig. 5A

Fig. 5B

Fig. 5C

T. Pl.ziekten 61 (1955): 47–51

PROEVEN TER BESTRIJDING VAN *HETERODERA ROSTOCHIENSIS* DOOR HET WASSEN EN ONTSMETTEN VAN AARDAPPELEN

With a summary: Experiments to control Heterodera rostochiensis by washing and desinfecting potatoes

DOOR

Ir J. D. Bijloo

Plantenziektenkundige Dienst, Wageningen[1])

INLEIDING

Van verschillende zijden is reeds onderzocht of de cysten van *Heterodera rostochiensis* welke in de grond, die aan de aardappelknol gekleefd is, aanwezig zouden kunnen zijn, gedood of verwijderd kunnen worden. Indien dit zou gelukken, dan zouden aardappelen van besmette terreinen niet langer voor pootdoeleinden gemeden behoeven te worden.

Triffit en Hurst (1935) toonden aan, dat bij warmwaterontsmetting geen enkele temperatuur, waarbij de cysten gedood werden, ongevaarlijk was voor de aardappelen.

Franklin (1939 en 1940) vond, dat door behandeling met warme of koude formaline de cysten gedood konden worden. De houdbaarheid van de knollen werd echter ongunstig beïnvloed. Proeven van de schrijver bevestigden dit resultaat.

Lubatti en Blackith (1950) vonden, dat ernstige beschadiging van de knol optrad bij begassing van aardappelen met methylbromide bij een gaswaarde (aantal grammen methylbromide $\times$ tijd per m^3 gasruimte) van 500–600 bij vrij hoge temperaturen (30 °C); bij lagere temperaturen trad ernstige kiembeschadiging op, welke zich gedeeltelijk kon herstellen. Er werd een groot verschil in gevoeligheid tussen verschillende aardappelrassen geconstateerd. Goffart (1952) geeft aan, dat in luchtdroge grond aanwezige cysten pas bij een gaswaarde hoger dan 600 (20 °C) gedood werden. Hierbij werd echter het weefsel van de knol beschadigd.

MATERIAAL EN METHODEN

In verband met de wettelijke voorschriften ter bestrijding van het Aardappelcystenaaltje kunnen in Nederland geen aardappelen verbouwd worden op gronden, besmet met deze parasiet. Niettemin blijft het in het licht van de aanbevelingen van de European Plant Protection Organisation, die adviseert dat pootaardappelen niet alleen afkomstig moeten zijn van onbesmette gronden, maar ook zoveel mogelijk vrij van grond moeten zijn (Large, 1953), wenselijk om aardappelen en ook andere landbouwproducten zoveel mogelijk grondvrij te vervoeren en te distribueren.

Bij wasproeven met aardappelen, afkomstig van een besmet proefterrein op

[1]) Gedetacheerd door de Werkgroep Onderzoek Bestrijding Aardappelcystenaaltje T.N.O.

zandgrond, bleek het bij herhaling mogelijk deze aardappelen met behulp van een voor dit doel geconstrueerde aardappelwasmachine geheel vrij van cysten te wassen. Het zelfde resultaat werd dit jaar voor het eerst bereikt met aardappelen, afkomstig van een besmet proefveld op zavelgrond. Aardappelen, afkomstig van niet besmette zware kleigronden, bleken echter nog niet geheel vrij van grond gewassen te kunnen worden.

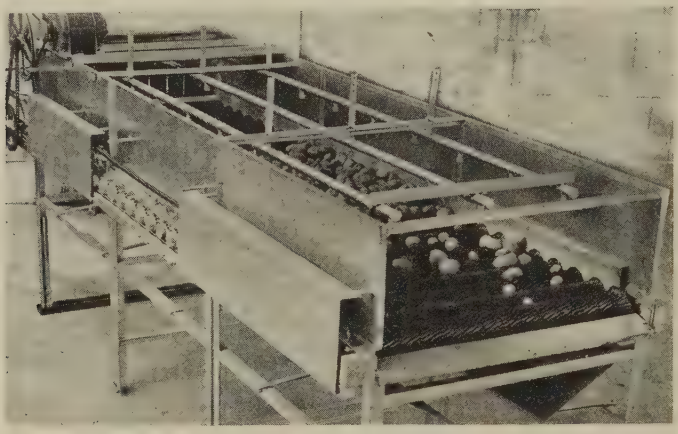


FIG. 1. PROTOTYPE VAN DE AARDAPPELMACHINE WELKE IN DEZE PROEVEN WERD GEBRUIKT

(Prototype of the potato-washing machine used in these experiments)

Als onderdeel van een groot aantal was- en ontsmettingsproeven[1]), welke in samenwerking met de Stichting voor Aardappelbewaring en DR J. C. MOOI[2]) gedaan worden, werd door de schrijver nagegaan op welke wijze een methode van ontsmetting van pootaardappelen tegen *Rhizoctonia* en *Fusariumrot* gewijzigd zou moeten worden om kunstmatig aan de aardappelen toegevoegde cysten van *Heterodera rostochiensis* te kunnen doden.

Bij ontsmetting van aardappelen in samenhang met een mechanisch wasproces zal de dompeltijd in de ontsmettingsvloeistof kort moeten zijn, zodat de capaciteit van het wassen (bijvoorbeeld 6–8 ton aardappelen per uur) daardoor niet beperkt wordt. Als uitgangspunt werden de dompeltijden genomen, welke in de practijk gebruikelijk zijn bij ontsmetting tegen *Rhizoctonia solani*. Vlak na de dompeling is de cyste-inhoud dan echter nog niet gedood, doch door de aardappelen niet te snel te drogen, kan de inwerkingstijd verlengd worden.

In het algemeen nu zullen aardappelen, indien nat opgezakt na de ontsmetting en geplaatst op een roostervloer, waardoor niet voorverwarmde lucht geblazen wordt, meer dan 8 à 10 uur vragen voor zij droog zijn.

Droge cysten werden in gazen zakjes gedaan, welke met een lange koperdraad aan een label bevestigd werden. Hierdoor was het mogelijk op eenvoudige

[1]) Deze proeven en nadere bijzonderheden over de gebruikte wasmachine zullen op een later tijdstip elders gepubliceerd worden.

[2]) Onderzoeker bij het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.) te Wageningen.

wijze dit proefmonster in het midden van een zak aardappelen te brengen.

De aardappelen werden gewassen met de bovengenoemde aardappelwasmachine, welk proces 3–4 minuten duurt. Daarna werden ze gedurende verschillende tijden gedompeld in enkele concentraties van de organische kwikverbinding AArdisan. Bij voorgaande proeven was reeds gebleken, dat de organische kwikverbinding AAventa te phytotoxisch is voor aardappelontsmetting, zodat dit middel niet in de proeven werd opgenomen. Enkele oriënterende bepalingen werden gedaan met de organische kwikverbinding Aretan.

RESULTATEN

De proeven werden uitgevoerd in November (aardappelen na 18 uur droog), in Januari (aardappelen na 12 uur droog) en in Maart (aardappelen na 7 uur droog door het gebruik van voorverwarmde lucht). Uit ieder aan de zakken toegevoegd monster cysten werden 100 cysten genomen en in het laboratorium gedurende twee en een halve maand geactiveerd, waarbij wekelijks vers wortelsecreet werd toegevoegd. Na de activering werd met behulp van de Homogenisatormethode (Bijloo, 1954) het aantal niet geactiveerde eieren bepaald. Uit deze waarnemingen werd het percentage geactiveerde larven ten opzichte van het totaal berekend. Bij de blanco's zal een gedeelte van de niet geactiveerde eieren volgend jaar alsnog uitkomen. Bij de bepalingen, waarbij geen enkele larve geactiveerd werd, mag aangenomen worden, dat de eieren dood zijn.

Tabel 1. Behandeling van pootaardappelen met organische kwikverbindingen voor het doden van cysten van *Heterodera rostochiensis* welke in zijden gazen zakjes waren toegevoegd.
De aardappelen werden gedurende verschillende tijden vochtig gehouden. Van iedere dompeling werden 100 cysten geactiveerd
Treatment of seed-potatoes with organic mercury-compounds to control cysts of Heterodera rostochiensis added in little silk-gauze bags
The potatoes were kept damp for varying periods; 100 cysts from each lot were hatched

Behandeling / *Treatment*	November Aardapp. na 18 uur droog *Potatoes dry after 18 hours*			Januari Aardapp. na 12 uur droog *Potatoes dry after 12 hours*			Maart Aardapp. na 7 uur droog *Potatoes dry after 7 hours*		
	geactiveerde larven *hatched larvae*	achtergebleven larven *(not hatched = killed larvae)*	% geactiveerd % *hatched*	geactiveerde larven *hatched larvae*	achtergebleven larven *(not hatched = killed larvae)*	% geactiveerde % *hatched*	geactiveerde larven *hatched larvae*	achtergebleven larven *(not hatched = killed larvae)*	% geactiveerde % *hatched*
Blanco (*Check*)	10.777	6.660	62	5.588	3.650	60,5	8.914	5.869	60,3
20 min.; water	10.980	7.900	58	8.675	6.300	58	7.998	4.965	61,7
1 min.; 0,15% AArdisan	1.030	12.920	7,5	413	10.025	3,9	–	–	–
20 min.; 0,15% AArdisan	270	16.280	2	0	11.350	0	35	14.290	0,24
1 min.; 0,5 % AArdisan	0	15.080	0	0	13.950	0	22	14.575	0,15
20 min.; 0,5 % AArdisan	0	17.280	0	0	11.000	0	0	13.650	0
1 min.; 1 % AArdisan	10	18.980	0,05	0	10.200	0	0	15.850	0
5 min.; 1 % AArdisan	0	18.380	0	0	10.600	0	0	14.275	0
1 min.; 0,15% Aretan				665	16.075	3,9			
1 min.; 0,5 % Aretan				0	13.925	0			
1 min.; 1 % Aretan				0	11.300	0			

Uit de tabel valt af te lezen, dat de reeds in de practijk toegepaste dompeling

van 0,5% AArdisan gedurende 1 minuut voor ontsmetting tegen *Rhizoctonia solani*, een volledige doding van de cysten van *Heterodera rostochiensis* geeft, indien de knollen maar minstens 7 uur vochtig blijven. De enkele nog gelokte larven in Maart rechtvaardigen de veronderstelling, dat het hier gaat om enkele ontsnapte eieren, welke indien de cysten langer droog in de zak met aardappelen bewaard waren, waarschijnlijk nog door de vluchtige kwikverbinding gedood zouden zijn.

De aardappelen werden niet voorgekiemd uitgeplant om de verschillen zo sprekend mogelijk naar voren te laten komen. Dit werd nog versterkt door het koude en droge voorjaar van 1954.

De oriënterende proef met Aretan in Januari vestigt de indruk, dat de nematicide werking van dit middel, althans indien het monster na 12 uur droog is, vergelijkbaar is met die van AArdisan[1]). Bij controle van de uitgeplante aardappelmonsters bleek echter, dat dit middel in deze proeven de stand en regelmaat van het gewas ongunstiger beïnvloedde dan AArdisan.

In het algemeen bleek, dat de ontsmettingen in November de opkomst sterker beinvloedden dan die in Januari en Maart. Vooral bij de rassen Libertas en Eersteling, afkomstig van zandgrond, werd zelfs bij de gebruikelijke dompeling van 0,5% AArdisan gedurende 1 minuut schade ondervonden. Bij het ras Bintje, afkomstig van klei en van zand, werd bij deze dompeling alleen een zeer geringe vertraging in de opkomst geconstateerd, welke spoedig verdwenen was. Indien de knollen voorgekiemd zouden zijn uitgeplant, zouden deze verschillen vermoedelijk niet zijn opgetreden.

Bij dompeling in 0,5% AArdisan gedurende 20 minuten en 1% AArdisan gedurende 1 en 5 minuten werd bij alle rassen meer of minder sterke beschadiging waargenomen. Het onderzoek hierover wordt voortgezet; de volledige gegevens zullen op een later tijdstip samen met die van de Stichting voor Aardappelbewaring en die van Dr Mooi vermeld worden.

Gaarne betuig ik mijn dank aan Dr J. C. Mooi, Ir A. E. R. Mes en Ir C. Stein voor de medewerking, welke zij bij dit onderdeel van de proeven verleenden.

SAMENVATTING

Het bleek mogelijk aardappelen, afkomstig van besmette proefvelden op zand en zavelgrond, door een machinaal wasproces van aanhangende grond en cysten te bevrijden. Aardappelen van onbesmette zware kleigrond bleken echter nog niet geheel vrij van grond gewassen te kunnen worden. In aansluiting hierop werd nagegaan of kunstmatig toegevoegde cysten van *Heterodera rostochiensis* gedood konden worden door het ontsmetten van de aardappelen met organische kwikverbindingen.

De in de practijk gebruikelijke dompeling in 0,5% AArdisan gedurende 1 minuut bleek dodelijk voor de cysten, indien de aardappelen minstens gedurende 7 uur na de ontsmetting vochtig gehouden werden.

Bij het ras Bintje, afkomstig van klei of van zand, trad hierna slechts een zo geringe tijdelijke vertraging in de opkomst op, dat in deze behandeling perspectief wordt gezien en deze verder in het onderzoek wordt betrokken. Bij de rassen Eersteling en Libertas van zand werd echter grotere schade gecon-

[1]) Bij proeven von recenter datum bleek dat bij kortere droogtijden de nematicide werking van Aretan geringer is dan die van AArdisan.

stateerd. Ook andere dompelingen in AArdisan, waarbij de cysten volledig gedood werden (zie tabel), toonden een meer of minder sterke beschadiging van het gewas bij uitplanten. Doordat niet werd voorgekiemd en de groeiomstandigheden in het voorjaar zeer ongunstig waren, kwamen de verschillen tussen de behandelingen zeer sterk naar voren.

AAventa bleek in een orienterende proef te phytotoxisch voor aardappelknolontsmetting.

SUMMARY

It was possible to free potatoes, grown on infested trial fields of sandy soil and sandy loam, from soil and cysts of *Heterodera rostochiensis* by treatment with a potato washing machine. Potatoes from uninfested heavy clay could not be completely freed from soil by washing.

Groups of cysts in silk-gauze bags were placed in sacks containing potatoes which were desinfected by immersion in solutions of organic mercury compounds.

The cysts were completely killed if immersed in 0.5 percent AArdisan for one minute and kept wet for at least seven hours.

The variety Bintje from clay and from sandy soil, after soaking in AArdisan 0.5 percent for one minute, and keeping wet for different times only showed a very small retardation of sprouting which soon disappeared. Further experiments are being conducted. The varieties Eersteling and Libertas from sandy soil were more heavily damaged than Bintje.

Other concentrations of AArdisan, which killed the cysts (see table), also resulted in injury. The differences in emergence among potatoes given various treatments were rather high because the tubers were planted without previous sprouting and the weather in spring was very cold and dry.

AAventa was to phytotoxic to use for desinfection of potato tubers.

GECITEERDE LITERATUUR

Bijloo, J. D. – 1954. A new Method for estimating the Cysts Contents of the Potato-root Eelworm Heterodera rostochiensis Wollenweber. J. Helmint. 28 ($^3/_4$): 123–126.

Franklin M.T. – 1939. Treatment of seed-potatoes for the destruction of adhaerent Heterodera Schachtii cysts. J. Helmint. 17: 113–126.

Franklin, M. T. – 1940. The effect on seed-potatoes of formaline treatment for the destruction of adhaerent eelworm cysts. J. Helminth. 18: 85–88.

Goffart, H. – 1952. Zur Frage der Bekämpfung von Nematoden mit Methylbromid. Anz. f. Schadl. XXV: 104.

Large, E. C., – 1953. Thanks to the Colorado beetle... Agriculture (J. Min. of) 59: 463–468.

Lubatti, O. F. and Blackith, R. E. – 1950. Fumigation of agricultural products. II. Susceptibility of seed-potatoes to the vapour of methylbromide. J. Sc. Fd. Agr. London 1: 240–244.

Triffit, M. J. and Hurst, R. H. – 1935. On the thermal deathpoint of Heterodera Schachtii. J. Helmint. 13: 219–222.

T. Pl.ziekten 61 (1955): 52–55

DE BESTRIJDING VAN DE TUINBONENKEVER, *BRUCHUS RUFIMANUS* BOH., VOLGENS DE ONTWIKKELING VAN HET GEWAS

With a summary: The control of Bruchus rufimanus in relation to the development of the beancrop

DOOR

Dr C. J. H. Franssen [1])

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.), Wageningen

INLEIDING

In de loop van 1955 zal een uitvoerige publicatie over de tuinbonenkever (*Bruchus rufimanus* Boh.) verschijnen; daarop vooruitlopende zullen ten behoeve van de praktijk de belangrijkste gegevens van het onderzoek hieronder in het kort worden samengevat.

Aan het onderzoek hebben medegewerkt mej. H. Roos en de heren D. Hoek, R. Simon Thomas en J. Singelsma. Veel hulp en medewerking mocht ik ondervinden van de Rijkslandbouwconsulenten te Dordrecht en Leeuwarden, resp. de heren Ir J. van Gaalen en Ir C. Spithost.

PHAENOLOGIE

De phaenologie van de kevers komt in grote trekken op het volgende neer. Tegen de tijd, dat de bonen oogstbaar zijn, beginnen de allereerste kevers, voortgekomen uit larven, die zich gedurende de zomer in de zaden ontwikkeld hebben, uit te zwermen, dan wel staan zij op het punt van uitkomen. Als het drogen op het veld echter door ongunstig weer lang duurt, zijn de meeste kevers bij het binnenhalen van de oogst reeds uitgevlogen. Gaat het drogen daarentegen snel, dan komt het restant van de kevers uit in de schuren. Soms overwinteren er enkele kevers in het bonenzaad; deze komen dan het volgende voorjaar uit de bonen. Het merendeel van de kevers heeft echter de zaden vóór het dorsen verlaten en overwintert buiten, voornamelijk in de grond. Daarom is niet te ontkomen aan een bestrijding van de dieren in het gewas in het volgende voorjaar.

Zodra de temperatuur in het voorjaar voldoende hoog is, verlaten de kevers tijdelijk of blijvend hun winterschuilplaatsen. Zij worden nl. na het actief worden weer spoedig opnieuw lethargisch, zodra de temperatuur sterk daalt.

CONCENTRATIE VAN DE KEVERS IN HET BONENGEWAS

Reeds vrij vroeg in het voorjaar begeven de kevers zich naar het jonge bonengewas. In 1954 werd te Minnertsga door de heer R. Simon Thomas, te Engelum door de heer J. Singelsma en te Ouddorp door de heer D. Hoek het concentratieverloop van de kevers in het bonengewas nagegaan. Dit was nodig, omdat de

[1]) Entomologisch Lab. van het I.P.O. te Amsterdam.

bestrijding gericht is tegen de kevers en gespoten moet worden, voordat deze eieren hebben kunnen leggen. Uit het onderzoek kwam vast te staan, dat de kevers zich in de laatste dagen van Mei bij een temperatuur van omstreeks 26 °C in ongeveer één dag volledig in het toen nog zeer jonge bonengewas hadden geconcentreerd. Hun aantal bleef aanvankelijk constant om dan na enige tijd geleidelijk af te nemen. Het voorjaar 1954 was abnormaal laat en om deze reden is de mogelijkheid niet uitgesloten, dat het zich concentreren van de kevers in het bonengewas in meer normale jaren op een vroeger tijdstip valt. Ook is het mogelijk, dat de concentratie in andere jaren over een langere periode in een minder snel tempo verloopt. Daarom zal dit punt van het onderzoek in 1955 worden voortgezet. Zeer lang kan deze periode echter niet duren, omdat de „trek" van de kevers naar het jonge bonengewas ten nauwste samenhangt met de rijpingsvreterij en de daarop volgende leg.

RIJPINGSVRETERIJ

Uit een onderzoek van Mej. H. Roos kwam vast te staan, dat de ovaria (eierstokken) van de kevers pas vlak vóór de leg eieren bevatten. De eieren komen dus pas na de overwintering en na de concentratie van de kevers in het bonengewas tot ontwikkeling en logischer wijze kon worden verwacht, dat de kevers daarvoor voedsel opnemen of met andere woorden, dat ze een zogenaamde rijpingsvreterij houden. Over deze rijpingsvreterij was tot nu toe zo goed als niets bekend.

Aangetoond kon worden, dat *Bruchus rufimanus* in Nederland de rijpingsvreterij houdt op de extraflorale kliertjes van de bonen en in de bloemen van deze plant. Een rijpingsvreterij op andere planten schijnt, zo ze voorkomt, hier te lande tot de hoge uitzonderingen te behoren. Als voedsel nemen de kevers nectar en stuifmeel op. Of ze zich ook met honingdauw voeden, is mij niet bekend, doch het lijkt mij wel waarschijnlijk. Trouwens aan honingdauw zullen ze op de bonenplanten als regel wel geen gebrek hebben in verband met het vaak talrijk voorkomen van de zwarte bonenluis (*Aphis fabae* Scop.). Voor de ontwikkeling van de eieren in de ovaria is een betrekkelijk lange tijd nodig, namelijk in 1954 volgens onderzoek van Mej. H. Roos te Ouddorp (Z.H.) minimaal 12 dagen en te Engelum (Fr.) minimaal 18 dagen.

INFECTIE VAN HET GEWAS

De eieren worden gelegd op de peulen, bij voorkeur op de zeer jonge. Zodoende is het bonengewas infecteerbaar, zodra de peultjes door het uiteenwijken of afvallen van de verdorde bloemblaadjes ten dele of geheel voor de kevers bereikbaar zijn. Tussen het begin van de bloei – en daarmede dus ook tussen het begin van het infecteerbare stadium – bestaan bij de in Nederland verbouwde bonenrassen verschillen van twee weken en langer. Het begin van de bloei is voorts in hoge mate afhankelijk van het tijdstip van zaaien en van klimatologische factoren, zodat er, wat het begin van het infecteerbare stadium betreft, bovendien een grote variatie bestaat tussen de verschillende jaren en de verschillende gebieden in Nederland.

Of er reeds dadelijk eieren worden gelegd op de infecteerbare bonenplanten, hangt af van het beëindigen van de rijpingsvreterij van de kevers en van de

temperatuur. In 1954 werden reeds eieren gelegd op de zeer jonge peultjes, doch in andere jaren kunnen de peulen verder ontwikkeld zijn ten tijde van het aantreffen van de eerste eieren.

De planten blijven infecteerbaar, zolang er peulen zijn, doch onder onze Nederlandse omstandigheden is de situatie meestal zo, dat de infectieperiode slechts kort duurt, ofschoon ze veel langer *kan* duren in verband met de veel langere aanwezigheid van peulen.

Zoals reeds werd opgemerkt is de bestrijding gericht tegen de kevers voordat ze eieren hebben kunnen leggen. Deze kevers zijn reeds in het gewas geconcentreerd, lang voordat het infecteerbaar is. Om ook bij een eventuele late concentratie van de kevers risico te ontlopen, verdient het aanbeveling het tijdstip van bestrijden te verschuiven tot vlak vóór het moment, waarop het gewas in het infecteerbare stadium komt. Zodoende kan er dus bij de bestrijding worden afgegaan op de ontwikkeling van het gewas. Dat maakt het vaststellen van de spuittijd voor de praktijk ook zeer eenvoudig.

BESTRIJDING

Gespoten wordt, zodra de bloemblaadjes van de onderste peulen beginnen te verwelken. Het verdient aanbeveling niet te spuiten bij temperaturen lager dan 17 °C, daar de kevers dan weinig actief zijn en zich onder meer verschuilen in de groeitoppen, tussen de opgerolde blaadjes en in de bloemen. Indien er in verband met de temperatuur niet op het aangegeven moment kan worden gespoten, kan er hoogstens gewacht worden tot de onderste verdorde bloemblaadjes beginnen af te vallen of uiteen gaan wijken; in alle gevallen moet terstond gespoten worden, zodra de temperatuur weer gunstig is.

De kevers zijn zeer gevoelig voor DDT- en parathion bevattende middelen. Eerstgenoemd middel wordt verspoten in de vorm van een spuitpoeder in een dosering van 2 kg technisch zuiver DDT per hectare; parathion in een dosering van 400 gr van het werkzame bestanddeel per hectare. In verband met de bestrijding van de zwarte bonenluis is parathion te verkiezen boven DDT. Voor het welslagen van de bestrijding is het noodzakelijk het gewas vooral ook onderin goed te bevochtigen.

Waarschijnlijk is éénmaal spuiten bij uitblijven van herinfectie van uit naburige velden voldoende.

In 1953 en 1954 werd gespoten volgens de phaenologie van de eieren; ofschoon de aantasting met één enkele bespuiting tot lage proporties kon worden teruggedrongen, bleek dit kriterium niet juist te zijn, omdat er bij het vinden van het eerste ei reeds vele eieren gelegd bleken te zijn. Zowel in 1953 als in 1954 trad er op geen der bespoten percelen herinfectie op, indien ze voldoende ver verwijderd waren van onbehandelde percelen en ze in hun geheel waren bespoten met een werkzaam middel; in 1954 konden, mits voldaan aan deze voorwaarden, na de bespuiting geen levende kevers meer worden gevonden; in 1953 werd helaas niet naar de kevers gezocht.

SUMMARY

The first weevils leave the seeds when the crop starts to ripen, but most of them leave after harvest when the beans are drying in the field. Therefore control in the field in spring is imperative.

In spring the weevils concentrate on the young bean plants. They suck the black spots where nectar is found, but they also feed on nectar and pollen from the bean flowers. In this way the eggs ripen in the ovaria.

The crop must be sprayed as soon as the petals of the lowest flowers begin to wither. Then the weevils are already concentrated in the crop. It is inadvisable to spray when the temperature is below 17 °C, because then the weevils are not very active and hide in stem terminals, rolled up leaves, on flowers and other places. If spraying cannot take place at the time indicated because of the temperature it should not be delayed until after the withered petals on the lowest pods begin to part or to fall off.

The weevils are very sensitive to DDT- and parathion- containing chemicals. DDT must be sprayed at the rate of 2 kg of technical DDT per hectare and parathion at a dosage of 400 grams per hectare. For the control of *Aphis fabae* Scop. parathion is preferable to DDT.

In order to ensure success precaution must be taken that the lower parts of the plants are also throuroughly wetted.

A single treatment is probably sufficient.

T. Pl.ziekten 61 (1955): 56–59

OVER DE CICADELLIDENFAUNA VAN DE KERS

With a summary: Observations on leafhoppers of cherry

DOOR

H. H. EVENHUIS, biol. drs

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

In verband met het onderzoek naar de eventuele overbrenger van de Eckelrader virusziekte van zoete kers werd een onderzoek ingesteld naar de cicadellidenfauna van de kers in Nederland. Het feit, dat buiten Europa een vrij groot aantal virusziekten van vruchtbomen bekend is, welke door cicadelliden worden overgebracht, deed de verdenking juist op deze groep van insecten vallen. Overbrengingsproeven zijn reeds met een aantal soorten ingezet; tot op heden is echter de eventuele overbrenger nog niet gevonden.

In Nederland zijn in de laatste jaren enkele gevallen van virusoverbrenging door cicadelliden bekend geworden, nl. de dwergziekte van braam en framboos door *Macropsis fuscula* (ZETT.), de bramencicade (DE FLUITER en VAN DER MEER, 1953) en misschien twee virusziekten van incarnaatklaver door *Euscelis plebejus* (Fall.) (MARAMOROSCH, 1952; DE FLUITER, EVENHUIS en VAN DER MEER, ter perse). Daarvóór waren in West-Europa geen virusziekten bekend, welke door cicadelliden worden overgebracht.

Onder de cicadelliden, welke op de kers kunnen worden aangetroffen, is een klein aantal, waarvoor de kers een normale waardplant is; de dieren kunnen zich hierop voeden en voortplanten. Andere soorten zijn meer of minder vaak op kers aan te treffen; zij kunnen zich er wel gedurende geruime tijd op voeden, doch zetten hun eieren er niet op af. Het voorkomen van larven van deze soorten op kers moet door toevallige omstandigheden worden verklaard, b.v. doordat ze van vlak in de buurt staande waardplanten afkomstig zijn. Voor weer andere soorten is kers een ongeschikte voedselplant. Deze soorten kunnen ook door toevallige omstandigheden erop terechtkomen, b.v. als de onderbegroeiing van kruiden en grassen pas is gemaaid, of ze kunnen door de wind van naburige waardplanten op de kers terechtkomen. Daar ook deze soorten wel met hun styletten in het weefsel van de bladeren steken, komen ze als eventuele virusoverbrengers in aanmerking.

Het blijkt dus, dat zodoende een groot aantal soorten onderzocht dient te worden op hun vermogen om viren over te brengen. Omdat de Eckelraderziekte zich slechts langzaam uitbreidt, ligt het voor de hand om de eventuele virusoverbrenger(s) vooral in de beide laatste groepen van cicadelliden te zoeken. Een richtlijn bij het onderzoek kan verder het feit zijn, dat de tot op heden bekende virusoverbrengers onder de cicadelliden in bepaalde systematische groepen thuis behoren. Zo zijn b.v. uit de familie van de Typhlocybidae tot op heden nog geen virusoverbrengers met zekerheid bekend. De vijf in ons land het meest op de kers voorkomende cicadellidensoorten, waarvoor de kers ook met zekerheid een goede waardplant is, behoren juist tot deze familie. Van deze vijf soorten werden enkele gegevens verzameld. Ze zullen hier in de volgorde van hun algemeenheid van optreden behandeld worden.

1. *Typhlocyba quercus* (F.)[1]), een vrij kleine soort van ± 3 mm lengte; gemakkelijk te herkennen aan de oranje tot oranje-rode vlekken op de voorvleugels. Deze cicadellide is, voorzover door mij nagegaan werd, in de buurt van Wageningen, in de Betuwe en Limburg in de zomer op kers zeer algemeen. VAN ROSSEM (1954) vermeldt deze soort van Schinnen, waar hij zeer talrijk werd aangetroffen op kers met Eckelraderziekte. De overwintering heeft stellig plaats als ei, want in het voorjaar ziet men de larven talrijk aan de onderzijde van de bladeren. De imagines verschijnen in de tweede helft van Juni en kunnen tot in October worden aangetroffen. Het talrijkste zijn ze echter in de tweede helft van Juli. Dan is de door het zuigen aan de bladeren aangebrachte schade soms vrij aanzienlijk. Het beschadigingsbeeld bestaat uit witte vlekjes, die aan de bovenzijde van het blad te zien zijn (de dieren zuigen echter als regel aan de onderzijde van het blad). In elk wit vlekje bevindt zich een groen centrum. Het dier heeft blijkbaar zijn styletten aan het uiteinde gekromd in het bladweefsel gestoken en zodoende de bladcellen rondom een bepaalde plaats leeggezogen. Bij ernstige beschadiging kan het gehele blad wit zien. Hoewel de larven tot vrij laat in de zomer worden aangetroffen, zal één generatie per jaar toch wel regel zijn.

2. *Erythroneura alneti* (DHLB.), een ivoorwitte tot geelachtige soort van ± 4 mm lengte. Hij gelijkt veel op de bekende rozencicade, *Typhlocyba rosae* (L.), en is daarvan te onderscheiden door het aderstelsel van de voorvleugels en de manlijke copulatieorganen. De overwintering moet, evenals bij de vorige soort, als ei plaats hebben, daar de larven in het voorjaar in groot aantal aan de onderzijde van de bladeren te vinden zijn. Imagines komen vanaf de tweede helft van Juni tot in October voor; ook hier zal één generatie per jaar wel regel zijn. Het beschadigingsbeeld is hetzelfde als van de vorige soort.

3. *Erythroneura flammigera* (GEOFFR.) is ivoorwit met op elke voorvleugel een rode of oranje-rode zigzagband. Deze soort is bijna het gehele jaar door als imago aan te treffen, doch het talrijkste in de nazomer. De overwintering geschiedt als imago op wintergroene gewassen, vooral op naaldbomen. De eieren worden op kers in het parenchymweefsel aan de onderzijde van de bladeren gelegd. De larven zijn in Juli en Augustus in groot aantal aan de onderzijde van de bladeren aan te treffen. Ze zijn van de andere op kers voorkomende cicadellidenlarven te onderscheiden door hun lange, naar voren en naar buiten gebogen sprieten. Het beschadigingsbeeld is hetzelfde als van de beide voorgaande soorten. Stellig is er maar één generatie per jaar.

4. *Empoasca flavescens* (F.), een smalle, groene soort, te herkennen aan een doorzichtige cel in elk van de beide, overigens groene voorvleugels. Lengte 3 à 4 mm. Deze zeer polyphage soort schijnt over een groot gedeelte van de aarde verbreid te zijn. Ook in de tropen komt hij voor, waar hij o.a. schadelijk kan optreden aan katoen (CENDAÑA en BALTAZAR, 1947). Deze auteurs geven op de Philippijnen een ontwikkelingsduur op van 11 tot 17 dagen voor het mannetje en van 12 tot 18 dagen voor het wijfje. OSSIANNILSSON (1946) geeft twee generaties op voor Z.Zweden. In ons land is er waarschijnlijk meer dan één generatie per jaar. De imagines zijn het gehele jaar door aan te treffen. De overwintering geschiedt als imago op wintergroene gewassen, vooral op naaldbomen.

Daar de dieren zuigen aan bladsteel en nerven aan de onderzijde van het

[1]) Hierbij wil ik de heren W. H. GRAVESTEIN en Ir R. COBBEN hartelijk dank zeggen voor de determinaties, die ze voor mij verricht hebben.

blad, treden op de bladeren de typische witte vlekjes van de drie vorige soorten niet op.

5. *Eupteroidea stellulata* (Burm.), een fraaie soort van ± 4 mm lengte. De voorvleugels zijn melkwit met een bruine en zwarte tekening aan de top. De achterrand is duidelijk uitgeschulpt. Deze soort werd nooit in grote aantallen op kers gevonden. Toch werd hij bijna overal in de kerseboomgaarden in de buurt van Wageningen, in de Betuwe en in Limburg aangetroffen. In Engeland schijnt deze soort de meest algemeen op kers voorkomende cicadellide te zijn (Massee, 1941). Ook in de Verenigde Staten van N. Amerika komt deze soort soms in groot aantal op kers voor (Frost, 1948). Nuorteva (1952) vermeldt *Eupteroidea stellulata* in Finland als monophaag van linde (*Tilia cordata*). De overwintering geschiedt stellig in het eistadium. Imagines zijn vanaf de eerste helft van Juli te vinden tot in October. Er is stellig maar één generatie per jaar. De larven zijn plat en vrij dicht, borstelig behaard; kop, borststuk en achterlijf zijn grotendeels zwart. Het beschadigingsbeeld is hetzelfde als van de drie eerstgenoemde soorten.

Geen van de vijf bovengenoemde soorten leeft monophaag op kers. Voedselplanten, grotendeels ontleend aan literatuurgegevens, zijn o.a. te vinden bij Reclaire (1944).

Ook andere soorten cicadelliden werden min of meer regelmatig op kers aangetroffen, doch tot nu toe in gering aantal, b.v. *Empoasca decipiens* Paoli en *Erythroneura angusta* (Leth.), welke gezamenlijk met *Empoasca flavescens* en *Erythroneura flammigera* 's winters op naaldbomen kunnen worden aangetroffen. Massee (1941) vermeldt kers als een normale waardplant voor *Empoasca decipiens*. *Eurhadina pulchella* (Fall.) en *Alebra albostriella* (Fall.) werden enkele malen als larve op kers aangetroffen en hierop tot imago opgekweekt. *Typhlocyba rosae* (L.), de bekende rozencicade, die op roos zeer algemeen voorkomt, werd op kers slechts sporadisch aangetroffen. Als exemplaren van deze soort op bladeren van kers werden ingehoesd, verschenen na enige tijd de larven, die op kers tot imago konden worden opgekweekt. Het gelukte echter niet om deze generatie op kers wintereieren te laten afzetten. Mogelijk ligt hierin de verklaring van het feit, dat *Typhlocyba rosae* zo weinig op kers wordt aangetroffen.

Het schuimbeestje (*Philaenus spumarius* (L.)) en de fraaie, zwart met rode *Cercopis sanguinea* Geoffr. werden vrij vaak, doch uitsluitend als imago, op kers aangetroffen. Ze behoren stellig hierop niet thuis, hoewel de eerste soort, op kers ingehoesd, hierop minstens twee maanden en de laatste drie weken in leven kon worden gehouden. *Cercopis sanguinea* komt locaal in Nederland voor; zo werd hij in de boomgaard van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen in de tweede helft van Mei en in Juni regelmatig aangetroffen. Hij veroorzaakt op de bladeren van kers een eigenaardige mozaiekvorming. De schade is door het geringe optreden van deze soort echter niet van belang.

Behalve de hier genoemde soorten kunnen nog vele andere soorten cicadelliden op kers worden aangetroffen. Hun voorkomen op deze voedselplant zal in de meeste gevallen als zuiver toevallig moeten worden beschouwd. Elke soort, die in de buurt van een kerseboomgaard voorkomt, b.v. in de onderbegroeiing

of in het windscherm, kan door toevallige omstandigheden op kers terechtkomen. Deze soorten komen als eventuele virusoverbrengers zeker ook in aanmerking, zoals in het begin van dit artikel reeds is uiteengezet. Enkele soorten, die door ons in Wageningen op kers zijn waargenomen, zijn: *Aphrophora alni* FALL., *Euscelis plebejus* (FALL.), *Idiocerus* spec. (larven), *Errastunus ocellaris* (FALL.), *Arthaldeus pascuellus* (FALL.) en *Typhlocyba cruenta* var. *Douglasi* EDW.

SUMMARY

In connection with the investigation of a possible vector of the Eckelrader virus disease of sweet cherry in the Netherlands, an examination was made of the leafhopper fauna of cherry.

Five species were found breeding regularly on this hostplant viz. *Typhlocyba quercus* (F.), *Erythroneura alneti* (DHLB.), *Erythroneura flammigera* (GEOFFR.), *Empoasca flavescens* (F.), and *Eupteroidea stellulata* (BURM.). Some details about their biology are given. Other leafhopper species found on cherry, but which are probably only there by accident, are mentioned.

LITERATUUR

CENDAÑA, S. M. and C. R. BALTAZAR – 1947. A biological study of Empoasca flavescens Fabricius (Cicadellidae, Homoptera). Philip. Agric. 31:1–22.

FLUITER, H. J. de and F. A. VAN DER MEER – 1953. Rubus stunt, a leafhopper-borne virusdisease. T. Pl. ziekten **59**:195–197.

FLUITER, H. J. DE, H. H. EVENHUIS en F. A. VAN DER MEER – 1955. Observations on some leafhopper-borne virusdisease in the Netherlands. Verslag Viruscongres Lisse-Wageningen, 1954 (ter perse).

FROST, S. W. – 1948. The leafhopper Cicadella stellulata on cherry. J. Econ. Ent. **41**:513–514.

MARAMOROSCH, K. – 1953. A new leafhopper-borne plant disease from Western Europe. Plant Dis. Rep. **37**:612–613.

MASSEE, A. M. – 1941. The Hemiptera-Homoptera (Auchenorrhyncha) associated with cultivated fruits. J. Soc. Brit. Ent. **2**:99–109.

NUORTEVA, P. – 1952. Die Nahrungspflanzenwahl der Insekten im Lichte von Untersuchungen an Zikaden. Ann. Acad. sci. fenn., AIV **18**: 90 pgs.

OSSIANNILSSON, F. – 1946–1947. Svensk Insectfauna, Hemiptera-Stritar Homoptera Auchenorrhyncha **36** en **37**: 270 pgs.

RECLAIRE, A. – 1944. Naamlijst der in Nederland en het aangrenzende gebied waargenomen Cicaden (Hemiptera-Homoptera). Ent. Ber. **11**:221–256.

ROSSEM, G. VAN – 1954. Verslag over het optreden van enige schadelijke insecten in het jaar 1953. Ent. Ber. **15**: 246–252.

T. Pl.ziekten 61 (1955): 60–61

EEN INSTRUMENT VOOR HET AFSNIJDEN VAN DE STYLETTEN BIJ ZUIGENDE BLADLUIZEN

With a summary: Scissors for cutting the stylets of a feeding aphid

DOOR

W. VAN SOEST

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek (I.P.O.), Wageningen

Voor een onderzoek was het nodig om de styletten van zuigende bladluizen (*Myzus persicae* SULZER) door te snijden zonder dat daarbij de in het weefsel achterblijvende styletten-uiteinden van plaats veranderden. Deze voorwaarde bleek een grote moeilijkheid op te leveren, daar de taaie, chitineuze styletten ook door een uiterst scherp mes bij het snijden gemakkelijk wat worden opgetrokken.

Herhaalde pogingen met behulp van een zorgvuldig geslepen scheermes faalden dan ook op enkele uitzonderingen na. Het lag voor de hand de uitwerking van een zeer kleine schaar te onderzoeken, maar ook dit leidde tot niets. Er waren geen schaartjes te vinden, klein genoeg om tussen de luis en het substraat te brengen, zonder daarbij met deze twee in aanraking te komen. De kleinste instrumenten bij de oog-chirurgie in gebruik, bleken niet alleen veel te groot, maar vooral ook veel te dik te zijn.

Daar echter de schaarwerking de beste kans leek te geven op het vermijden van dislocatie, werd de oplossing gezocht in de constructie van een voldoend kleine en zuivere microschaar.

Van het bevredigende resultaat dezer pogingen geven wij hierbij een afbeelding. De constructie van het schaartje verliep als volgt: Van een pincet werden de punten zó afgezaagd, dat de breedte van de verkregen uiteinden ongeveer 3 mm was. Op $1\frac{1}{2}$ à 2 cm afstand van deze nieuwe uiteinden werden de benen iets naar binnen gebogen. In de buitenzijde van de omgebogen uiteinden werd met een fijn driekantig vijltje een lengtegroef aangebracht, waarin een speld met behulp van een klemschroefje draaibaar bevestigd werd. Met brievenlak werden op de speldepunten de snijrandjes van scheermesjes ter dikte van 0,08 mm vastgezet.

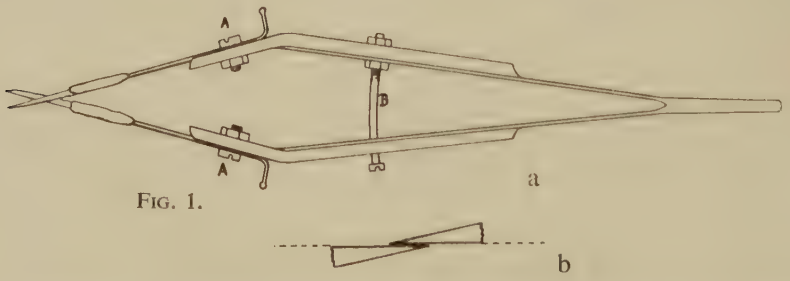


FIG. 1.

Door middel van de stelschroef A kan dit schaartje in een zodanige stand gebracht worden, dat de punten van de mesjes in de ruststand precies op elkaar

vallen. Drukt men het pincet dicht, dan opent het schaartje zich; vermindert men de druk, dan wordt het schaartje door de veerkracht van het pincet gesloten. Onder een binoculair microscoop kan men de mesjes door middel van de te voren haaks omgebogen boveneinden van de spelden zo stellen, dat de snijkanten precies langs elkaar glijden. Voor een goed resultaat is het noodzakelijk, dat de beide groeven, die in het pincet werden aangebracht, nauwkeurig in één vlak liggen.

De mesjes verkrijgt men het best door het uiterste randje van een scheermesje stevig tussen de platte bek van een tangetje te nemen en het met een korte beweging af te breken. Het lukt bijna steeds op deze wijze zeer spits toelopende snijrandjes te verkrijgen met een lengte van ongeveer 15 en een breedte van ongeveer 1–1½ mm.

Het schaartje heeft in de praktijk goed voldaan. De ervaring leerde, dat men de beste resultaten krijgt, wanneer men de luis schuin van voren met het schaartje nadert en het rostrum en een voorpoot tegelijkertijd doorknipt.

SUMMARY

Though it is possible to cut the stylets of a feeding aphid of the size of *Myzus persicae* (SULZER) with a razor blade, success is rare and almost invariably the stylets are dislodged. Attempts with various available scissors failed because the blades were too thick so that the aphids were disturbed and withdrew their stylets. Therefore the following very satisfactory tool was developed (Fig. 1*a*).

Bent insect needles are pushed through holes in the bolts A, which press the pins into shallow grooves made in the bent ends of the forceps. Narrow, preferably sharp pieces of safety razor blades are fixed with sealing wax to the points of the insect needles, so that the cutting edges are directed outwards. The nuts of screw B are adjusted so that the tops of the blades lie on each other.

By handling the bent ends of the insect needles the blades are turned until the corresponding faces of the wedge-shaped cutting edges move in the same plane (Fig. 1*b*). By closing the forceps the scissors are opened. They cut when the pressure on the forceps is released.

The operation is best performed by cutting one fore leg in addition to the rostrum. Then the stump of the rostrum is pulled up, leaving the stylets in position in the leaf.

T. Pl.ziekten 61 (1955): 62–63

UIT DE LITERATUUR

NIEUWE INZICHTEN OMTRENT EPIPHYTEN

(EEN NIEUW HOOFDSTUK VAN DE PLANTENZIEKTENKUNDE)

In vochtige tropische streken zijn vele bomen begroeid met andere planten. Tot hoog in de kruin zijn zij dicht bezet met kleine varens, Orchideeën, Bromeliaceeën, e.d., waarvan de ineengevlochten wortels vaak een dikke laag om de takken van de gastheer vormen.

Deze planten dringen met hun wortels niet in de weefsels van de gastheer door. Men stelt ze daarom als *epiphyten* naast de *parasieten*, die wel geheel of gedeeltelijk in de gastheer groeien en aan deze hun voedsel ontlenen.

In de plantkunde was men in het algemeen de mening toegedaan, dat de gastheer van de aanwezigheid van epiphyten op zijn stam en takken geen schade ondervond, hoewel uit de practijk een enkele maal wel eens een stem klonk, die dit betwijfelde. Door het onderzoek van Mej. Dr J. RUINEN [1]), hoofd van het Treub Laboratorium te Bogor (Indonesia), heeft deze twijfel een stevige fundering gekregen.

Het viel Mej. RUINEN op, dat vele bomen en struiken in Kebun Raya Indonesia, de beroemde plantentuin te Bogor, in een zeer slechte staat verkeerden en dat dit vaak exemplaren waren, die dicht met epiphyten waren begroeid. Deze samenhang tussen de begroeiing en het slechte uiterlijk van een boom was door vroegere onderzoekers wel eens verklaard uit het feit, dat het dichte net van epiphytenwortels rond de takken deze na hun dood voor afvallen behoedt. Hierdoor blijven aan een boom met veel epiphyten de dode takken hangen, terwijl ze bij een boom zonder epiphyten afvallen. De laatste bevat dan minder dood hout en lijkt gezonder dan de eerste.

Deze verklaring kwam Mej. RUINEN weinig waarschijnlijk voor. Wanneer zij bij dezelfde boom van met epiphyten bezette takken en van takken zonder epiphyten het gemiddelde gewicht en de gemiddelde grootte van 200 bladeren bepaalde, bleken de bladeren, afkomstig van de takken zonder begroeiing groter en zwaarder te zijn. Mej. RUINEN liet nu bij een tweetal bomen, die dicht met epiphyten bezet waren, een tak grondig schoonmaken. Vier maanden later waren er duidelijke verschillen tussen de begroeide en de schoongemaakte takken. De bladeren van de laatsten hadden een frisser groene kleur en waren groter dan de bladeren van de begroeide takken. Bovendien droegen de schoongemaakte takken meer bladeren per knoop.

Dit alles wijst erop, dat een begroeiing met epiphyten het effect kan hebben van een plantenziekte. In de phytopathologie wordt het bewijs, dat een bepaald organisme de oorzaak van een ziekte is, verkregen door een gezonde plant met dat organisme te inoculeren. Op dezelfde wijze bewees Mej. RUINEN, dat de epiphyten de oorzaak van de waargenomen ziekteverschijnselen waren. Op de takken van een aantal uit zaad gekweekte sierheesters werden plantjes vastgebonden van pitjisan (*Cyclophorus nummularifolius*), een varentje dat als epiphyt in grote massa's kan voorkomen. Binnen een jaar na de „inoculatie" met

[1]) RUINEN, J. – 1953. Epiphytosis, a second view on epiphytism. Annales bogorienses, 1, no 2: 101–157.

het varentje zagen de heesters er ziekelijk uit. Na 18 maanden was de index voor de grootte van het bladoppervlak bij de met pitjisan begroeide struiken 13,9 ± 1,3, en bij de onbegroeide struiken 36,9 ± 4,6. Het varentje was hier dus duidelijk ziekteoorzaak. Voor dit type ziekte stelt Mej. RUINEN de naam *epiphytose* voor.

Het spreekt vanzelf dat ook getracht werd te vinden, op welke wijze de schadelijke invloed van de begroeiing de gastheer treft. Microscopisch werden onder de plaatsen, waar zich epiphytenwortels bevonden, in schors, bast en hout ziektesymptomen gevonden. De belangrijkste hiervan waren wel: verstopping van de houtvaten door thyllen, door wondgom of zelfs door schimmelhyphen, dode plekken in het hout en de schors, afsterven van het phloëem. Meestal werden in de epidermis en onderliggende weefsels van de gastheer schimmelhyphen aangetroffen. In een aantal gevallen kon worden nagegaan waar deze hyphen vandaan kwamen.

Evenals Orchideeën, heideachtige planten en vele bomen bezitten de meeste epiphyten een mycorrhiza. Hierbij zijn de wortels van de plant omgeven door schimmelhyphen, en deze hyphen bevinden zich ook rond en in vele cellen van de buitenste lagen van de wortelschors. Er is hierbij een samenleven van plant en schimmel, die voor de voeding van de plant zeker betekenis heeft.

Nu liggen de wortels van de epiphyt zonder enige tussenruimte tegen de schors van de gastheer aan. Soms is het zelfs microscopisch moeilijk te zien, waar het weefsel van de eerste begint en dat van de laatste ophoudt. Herhaaldelijk werden nu door Mej. RUINEN rechtstreekse verbindingen gevonden tussen de schimmelhyphen in het weefsel van de gastheer en die in de epiphyt. De onderstelling ligt voor de hand, dat de mycorrhizaschimmel van de epiphyt in de takken van de gastheer dringt, en hier de gevonden ziektesymptomen veroorzaakt.

Indien deze hypothese van Mej. RUINEN juist is, zouden wij hier met een zeer merkwaardige plantengemeenschap te maken hebben. De mycorrhiza is een vorm van samenleving tussen hogere plant en schimmel, waarbij de laatste bepaalde, voor zijn groei onontbeerlijke, stoffen van de hogere plant betrekt. Op zijn beurt verkrijgt de hogere plant uit de schimmel stoffen, welke door deze uit de omgeving zijn opgenomen. In ons geval wordt deze omgeving echter niet, zoals gewoonlijk, gevormd door de grond waarin de plant groeit, doch door de weefsels van de gastheer. Het is zeer goed denkbaar, dat de epiphytische orchidee of varen, die zelf de weefsels van de boom, waarop hij zich bevindt, ongemoeid laat, toch op zijn gastheer parasiteert door tussenkomst van zijn mycorrhizaschimmel. Hoe en in welke mate dit geschiedt, of er inderdaad stoffen uit de gastheer via de hyphen in de epiphyt overgaan, of antibiotische stoffen een rol spelen bij de beschadiging van de weefsels van de gastheer, deze vragen, en nog vele andere, vormen een veld voor verder onderzoek.

Dat epiphytose een plantenziekte is, waarmede in de practijk van tropische cultures als koffie en citrus, en in de fruitteelt in tropische landen, terdege rekening moet worden gehouden, is door het werk van Mej. RUINEN duidelijk naar voren gekomen. In hoeverre wieren en korstmossen, die in gematigde luchtstreken vaak een begroeiing vormen op vruchtbomen, de oorzaak zijn van epiphytose, en daardoor schadelijk zijn, staat niet voldoende vast; van het optreden van schimmels als tussenschakel hierbij, is in die gevallen, voor zover de referent weet, tot nu toe niets bekend geworden.

M. H. VAN RAALTE

BOEKBESPREKING

W. F. JEPSON. A Critical Review of the World Literature on the Lepidopterous Stalk Borers of Tropical Graminaceous Crops. Uitg.: Commonwealth Institute of Entomology, London, 1954; 127 blz. Prijs: 15 sh.

In korte, puntige taal geeft de schr. hier een overzicht van het onderzoek over in Gramineeën borende rupsen in de tropen. Hij refereert 490 artikelen, waaronder een 30–tal van Nederlandse onderzoekers in Indonesië. De bespreking is duidelijk gericht op het economisch belang van deze groep; de schade, erdoor veroorzaakt, ligt in de orde van die der sprinkhanen. Enige malen hebben de rijstboorderplagen in Japan en op Java hongersnood veroorzaakt.

In hoofdzaak worden de boorders besproken van suikerriet, rijst, mais, kafferkoren (*Sorghum*) en paarlgierst (*Pennisetum*). Het zijn vooral *Pyralidae* en enkele *Noctuidae*.

Systematisch zijn de boorders vrij goed bekend, doch onze oecologische kennis is nog zeer beperkt. De oorzaak van de mortaliteit der boorders gedurende enige jaren te vervolgen, is de meeste onderzoekers niet gegeven. Nader inzicht in het verband tussen het optreden van „boorderjaren" en het klimaat, dat onmiskenbaar aanwezig is, zou op de duur kunnen resulteren in het voorspellen van de plagen.

Na een inleidend, historisch overzicht wordt aandacht geschonken aan de systematiek. Alweer sneuvelen enige vertrouwde namen: *Schoenobius bipunctifer*, thans *S. incertulas* WLK.; *Pyrausta nubilalis* (tropische vorm) wordt *P. salentialis* SN.; de Scelionide *Phanurus* is thans bij *Telenomus* ondergebracht.

Even een citaat: „The importance of systematics to the applied entomologist in the field is that of the map reference to the military commander" (blz. 11). Een zeer waar woord! Hoeveel landbouw-entomologen, die chemische middelen toepassen, maken vóór de eerste behandeling de inventaris op van wat er in het gewas leeft en groeit?

Het grote belang van het onderzoek der voedselplanten wordt onderstreept.

Diepgaand worden de levenswijze en de groei der stadia beschreven. Ten onrechte wordt de diapauze bij *Scirpophaga innotata* nog aan droogte (DAMMERMAN) toegeschreven. VAN DER GOOT wijt haar aan veranderde voeding. Even later noemt schr. dit ook, waarschijnlijk zich niet bewust, dat DAMMERMAN en VAN DER GOOT hetzelfde verschijnsel bedoelden!

Het parasitisme, beperkt tot de eieren en volwassen larven, heeft in vele gevallen een ingrijpende invloed. *Schoenobius*, de gele rijstboorder, zou op Java zeer veel ernstiger optreden, als de plagen niet steeds door de eiparasieten beëindigd werden. Ook de frappante waarneming van een suikerplanter op Java, dat de ♀♀ van *Schoenobius* de wespjes van de eiparasiet *Telenomus* vervoeren (VAN VUUREN, 1935), is vermeld.

Dat voor een toegepast entomoloog het zwaartepunt op de bestrijding komt te liggen, zal niemand hem kwalijk nemen. Cultuurmaatregelen worden eerst besproken: de directe bestrijding door wegvangen e.d., wordt nog steeds veel toegepast. Teelt van resistente rassen wordt ook behandeld, vooral bij suikerriet is er over gewerkt; bij mais zou onderzoek in deze richting nuttig kunnen zijn. Bij de bespreking van de biologische bestrijding mis ik de naam van DIAKONOFF bij de behandeling der „oecologische eilanden". Enkele fraaie resultaten worden hier genoemd.

De chemische bestrijding is pas sinds de laatste oorlog van belang geworden. Als men de insecticiden vroeg toepast, nl. op de zeer jonge rupsjes, die nog niet ingeboord zijn, kan men voortreffelijke resultaten verkrijgen:

Veel onderzoek, dat, internationaal gezien, moeilijk toegankelijk is, waaronder de publicaties in het Nederlands van HAZELHOFF en VAN DER GOOT, komen hier onder de algemene aandacht. Vaak wordt ook het compilatiewerk van KALSHOVEN geciteerd. Alles bijeen is deze publicatie een fraai voorbeeld van refereerwerk, dat zich niet tot critiekloos compileren heeft beperkt, doch waarin de schr. zich boven de duizenden details heeft kunnen opwerken tot richtlijnen voor verder onderzoek.

P. A. VAN DER LAAN